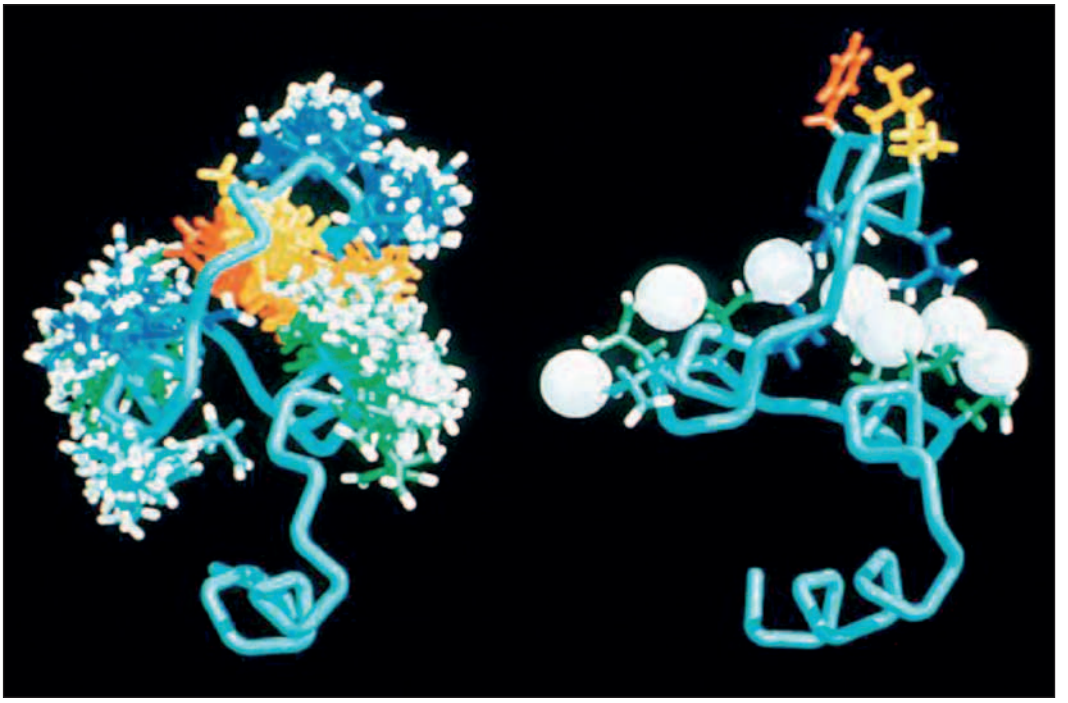
ISSN 1101-2013

Klinisk Biokemi i Norden



Nordisk Forening for Klinisk Kemi

Nr. 2, vol. 21, 2009

Ledare 4
Linda Hilsted

Nytt från NFKK. 7
Jarkko Ihalainen

Hur vi kom på vad vitamin K gör med protrombin 8
Johan Stenflo

Nytt om Labmed 2010 - Nordiska kongressen 2010 i Oslo 22
Tor-Arne Hagve

Bootstrap – slik fungerer det. 24
Johan Bjerner

Resestipendium från KBN: Vagabondera mera!. 30
Per Simonsson

Kristoffer Hellsings pris 2008 till Johan Bjerner. 31
Per Simonsson

Fallbeskrivning: Nyfödd gosse med kraftigt svängande tyreoideavärden 32
Anders Isaksson och EQUALIS expertgrupp i endokrinologi

Tre immunologiska metoder för bestämning av tumörmarkören CA 19-9 i jämförelse . . 36
Kristina Hotakainen, Pirjo Tanner, Henrik Alfthan, Caj Haglund och Ulf-Håkan Stenman

Nordiska kursen för yngre läkare 2009 44
Bess Margrete Fröyshov

Klinisk biokemi – et forskningstungt speciale
Fremtid eller en forældet romantisk forestilling?. 46
Ebba Nexø og Lars Melholt Rasmussen

LabMed – et ph.d.-forskeruddannelsesprogram, skræddersyet til klinisk biokemi 48
Ebba Nexø

Den vandrande vetenskapsmannen: Atlanten på krita och lera 50
Per Simonsson

IFCC News. 52
Päivi Laitinen

Common formulas and terms in statistics and metrology in the clinical laboratory. . . 54
Jonna Skov Madsen

Forside: Bilden på omslaget visar schematiskt en gammakarboxyglutaminsyra (Gla) innehållande domän. Figurens vänstra del visar domänen utan kalciumjoner och den högra delen domänen med kalciumjoner bundna. De blå och grönvita "buketterna" visar sannolikheten för var de olika Gla-resterna är belägna i frånvaro av kalciumjoner. De gula och röda aminosyrorna är hydrofoba. I frånvaro av kalciumjoner är de mer eller mindre dolda i domänens inre. När kalciumjonerna binds tvingas Gla-resterna ut på domänens yta, en förutsättning för att de ska kunna interagera med fosfolipidmembraner, t.ex. på aktiverade trombocyter.

Klinisk Biokemi i Norden er medlemsblad for Nordisk Forening for Klinisk Kemi

Small enough to fit on your desk.

Large enough to transform your lab.

Introducing the UniCel® DxH 800 Coulter® Cellular Analysis System.

The UniCel DxH 800 is designed to be your next step toward greater productivity. Unparalleled, high-quality results are assured by a host of new and proprietary technologies including High Definition Cellular Analysis and Flow Cytometric Digital Morphology. However, this is only the beginning.

Innovative efficiency tools enable the UniCel DxH 800 to provide one of the leanest platforms in the industry. In only a small desktop footprint, the DxH 800 produces 10 times more data on each cell than traditional hematology systems.

Magnetic transport system delivers auto repeat and "load 'n' go" capability.

And while it may be small in size, the UniCel DxH 800 offers revolutionary scalability* to meet precisely your laboratory's present and future needs.

To learn how the UniCel DxH 800 can transform your laboratory for a new era of cellular analysis, contact your Beckman Coulter representative or visit us at beckmancoulter.com/DxH.

Chemistry Immunodiagnostics Centrifugation Molecular Diagnostics **Hematology**
Disease Management Hemostasis Information Systems Lab Automation Flow Cytometry Primary Care

BECKMAN COULTER
We're better together

© Copyright 2009 Beckman Coulter, Inc. *In development

Fri produktionsret inden for Klinisk Biokemi? Eller skal Big Brother styre?

Linda Hilsted

Som led i specialeplanlægningen i Danmark, hvor Sundhedsstyrelsen (SST) nu har reel magt til at regulere, hvad der skal udføres hvor, nedsatte SST i maj 2008 en række specialearbejdsgrupper, der havde til opgave i løbet af et par måneder at udarbejde en Specialerapport og revidere den eksisterende Specialevejledning for hvert enkelt lægeligt speciale. I Specialerapporten skulle blandt andet indgå en beskrivelse af hvilke hovedfunktioner (udføres på alle afdelinger) og specialiserede funktioner (regionsfunktioner: 1-3 steder pr. region, og højt specialiserede funktioner: 1-3 steder i landet) specialet varetager.

Inden for Klinisk Biokemi havde vi i en tidligere runde – i modsætning til mange andre specialer - valgt ikke at definere nogle specialiserede funktioner. Specialets holdning var dengang, at frie markedskræfter bør råde, konkurrence er sundt – og hvorfor lade os begrænse i vores produktion? Som en kollega udtrykte det: Vi kan da selv indbyrdes fordele afdelingerne imellem, hvilke analyser vi udfører, og dertil behøver vi da ikke en Big Brother!

Men vores specialearbejdsgruppe, bestående af 8 overlæger og 1 ledende bioanalytiker, kom hurtigt til den konklusion, at specialets hidtidige holdning ikke kan opretholdes. Teknologien er efterhånden blevet så vidtspændende og avanceret, og fortolkningen af analyseresultaterne ofte så kompliceret, at der reelt er tale om specialiserede analyser på en række områder. Videnskabelig interesse og/eller profileringsønsker har flere steder i landet ført til opsætning af komplicerede analyser til brug i patientbehandlingen, hvor faglige og resursemæssige overvejelser burde have talt imod. En robust enhed kræver en større bemanding end 1-2 nok så engagerede og vidende akademikere og bioanalytikere til at varetage funktionen.

Vi har enkelte Klinisk biokemiske afdelinger i Danmark, hvor der reelt kun er en speciallæge ansat, og det kan ikke være i nogens interesse. Vi har også eksempler på, at klinisk biokemiske specialanalyser udføres uden for Klinisk Biokemisk regi, hvilket af mange grunde heller ikke er hensigtsmæssigt. Mange intern medicinske afdelinger har haft laboranter tilknyttet og har haft tradition for selv at udføre nogle få klinisk biokemiske specialanalyser (fx immunsuppressiva, koagulation m.v.).

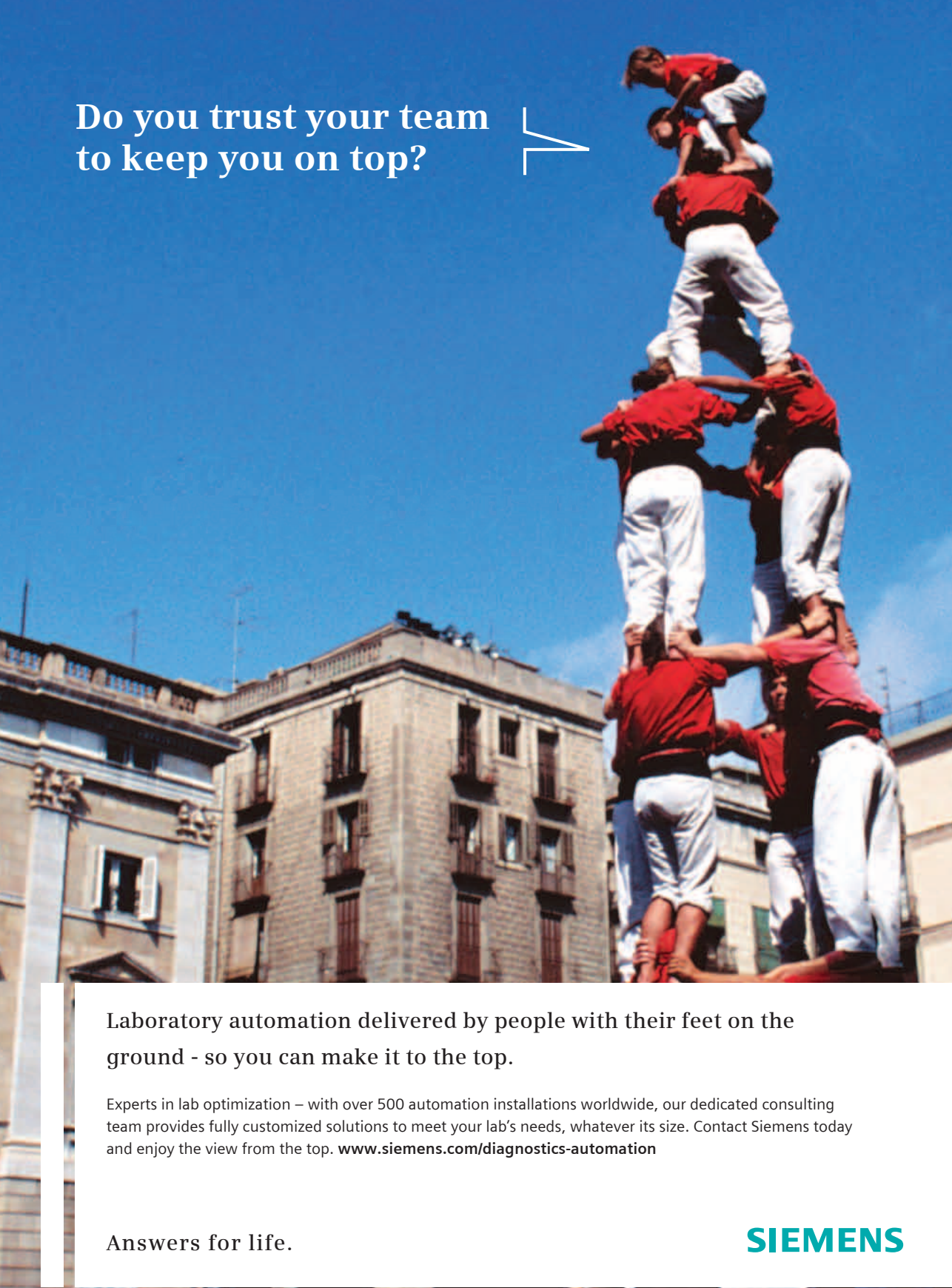
Konsolidering inden for specialet må være et af nøgleordene, når kvalitet og hensigtsmæssig ressourceudnyttelse skal følges ad. Samtidig er vi i den heldige situation, at der er en rivende udvikling i specialet – ikke mindst den molekylær genetiske diagnostik taget i betragtning. Der er nok at tage fat på og mere end nok til os alle, og det er afgørende, at vi er med i front, hvis vi skal blive ved med at være et selvstændigt lægeligt speciale.

En af opgaverne for arbejdsgruppen var nu at identificere, hvilke opgaver (analyser), der skulle karakteriseres som specialfunktioner. Når vi anbefalede at betragte visse analyser eller områder som specialiserede, var det primært på baggrund af behov for faglig kompetence vedr. de pågældende analysers anvendelse og fortolkning m.m. – identiske med de såkaldt videnstunge analyser. For visse af analyserne og områderne var det analysetallet, der var begrænsende for, hvor mange steder funktionerne skulle udføres, og endelig kunne begrænsningen i et vist omfang også være betinget af, at analyserne er komplicerede at udføre, og nogle endnu ikke automatiserede.

For de højt specialiserede funktioner angav vi det krav, at der skulle være kendskab og interesse for analysen hos mindst 2 personer på akademikerniveau, ligesom der skulle være forskningsaktivitet på området i afdelingen.

Der var en høj grad af konsensus i arbejdsgruppen generelt, hvilket vel kan tages som udtryk for, at når vi har mulighed for at sætte os ud over konkurrencemæssige og økonomiske bindinger, så er der en høj grad af konvergens i holdningerne inden for specialet.

(Leder fortsætter side 6)



Laboratory automation delivered by people with their feet on the ground - so you can make it to the top.

Experts in lab optimization – with over 500 automation installations worldwide, our dedicated consulting team provides fully customized solutions to meet your lab's needs, whatever its size. Contact Siemens today and enjoy the view from the top. **www.siemens.com/diagnostics-automation**

Answers for life.

SIEMENS

A91DX-0701171-A1-4A00

© 2008 Siemens [illegible] Inc. All rights reserved.

(Leder fortsat fra side 4)

Som *regionsfunktioner (1-3 steder pr. region)* udpegede vi 4 områder:

- *Trombofili og blødningsudredning*: Rådgivning og fortolkning i forbindelse med trombofili- og blødningsdiagnostik
- *Paraproteinæmi og myelomatose*, screening og kvantitering
- *Medikamentmonitorering* ved specielle, sjældent anvendte psykofarmaka/antiepileptika
- *Autoimmune sygdomme:* Sjældne antistofanalyser.

Som *højt specialiserede funktioner (1-3 steder i landet)* blev udpeget 10:

- *Hæmoglobinopatier og arvelige erytrocytsgdomme,* diagnostik og rådgivning
- *Hæmofili og beslægtede sygdomme*, diagnostik
- *Porfyrisygdom*
- *Specielle dyslipidæmier*
- *Specialanalyser og svarafgivelse ved særlige forgiftninger*
- *Paraproteinæmived*, *undersøgelse af knoglemarvstransplanterede patienter* (minimal residual disease)
- *Tumormarkører tilhørende de sjældne cancersygdomme*
- *Molekylær genetiske analyser hvor diagnostik, fortolkning og rådgivning er vanskelig*
- *Perinatal screening for medfødte stofskiftesygdomme*
- *Renal konkrementdiagnostik.*

Selv om vi i arbejdsgruppen generelt var tilfredse med både Specialerapporten og Specialevejledningen, er det klart, at der også er områder, hvor vi ikke har været tilstrækkelig præcise. Denne proces, hvor regionerne ansøger Sundhedsstyrelsen om tilladelse til at udføre specialfunktioner, er nu i fuld gang. Efterfølgende skal Sundhedsstyrelsen så tage stilling til placeringen af disse, og hele processen skal være afsluttet 1. september i år. Ansøgningsproces, sagsbehandling og den efterfølgende fordeling vil i den kommende tid blandt andet klarlægge styrker og svagheder ved vore beskrivelser og definitioner. Sundhedsstyrelsens repræsentanter anførte undervejs, at Specialevejledningen (inkl. placering af specialfunktioner) ikke er at betragte som 'hugget i granit', selv om dens gyldighedsperiode formelt er 3 år.

Specialearbejdsgruppens sammensætning, Specialerapport og Specialevejledning kan findes på www.dskb.dk - se også www.sst.dk.

Foto: Henrik Alfthan

Nytt från NFKK
Adventures in mountains and mathematics

Jarkko Ihalainen

Den viktigaste av NFKKs skriftliga informationskanaler till medlemskåren, dvs KBN, hade sitt redaktionsmöte bland Norges fjäll. Det här gången kunde jag inte delta, så ni får höras mera om tidningens lysande framtidsplaner från andra källor. Jag vill dock säga att intresset för tidningens innehåll tycks ha vuxit i Finlands laboratorievärld under de senaste åren. Språkfrågan har vi inte helt blivit av med men eventuella språkliga svårigheter kompenseras av innehållets höga kvalitet. Tack, redaktionen!

NFKKs styrelse har sitt vårmöte på Island i maj. Vi fick läsa om Islands pinsamma situation från Ingunns högst intressanta ledarartikel nyligen men vi litar helt på isländska kollegornas intresse och förmåga till nordiska samarbeten, trots svåra tider, och förebereder flytt av ordförandeskapet i föreningen till Island inom närmaste året. Nordiska kongressen i Oslo 2010 kan vi också så småningom börja sikta, resereservationer hinner man nog med senare men vetenskapliga resultat att presenteras kan ta lite längre att åstadkomma.

Ekonomin för NFKK tas av praktiska skäl hand av danska kollegor. Med glädje har vi hört, att kassören Palle Wang får efterträdare i Niklas Jørgensen från Rigshospitalet. Samnordisk föreningsaktivitet är inte det lättaste att organisera med hänsyn till varierande skatte- och föreningslagstiftningar i de olika länderna. EG-gränsen och olika valutor gör saken inte lättare. Varmt välkommen dock, Niklas!

In addition to economic practicalities our light administrative structure has an impact on decision making. NFKK is not especially capable for fast operative decisions as has been shown by our somewhat weak response to the call from Anders Kallner to review the Swedish-British document on verification as well as by the absence of clear cut answer to the question posed to us concerning unit for troponins. At present NFKK is a coordinative organ and between board meetings our Nordic expertise is located in projects. This means that in the absence of a suitable project to prepare NFKK positions, one has to wait until board meeting.

Electronic tools make it significantly easier to arrange ad hoc international meetings but it still takes a lot of preparatory work to discuss complicated professional or scientific issues.

Redaktionen i arbete. Foto: Henrik Alfthan

Hur vi kom på vad vitamin K gör med protrombin

Johan Stenflo
Institutionen för Laboratoriemedicin, Universitetssjukhuset MAS, Malmö
Johan.stenflo@med.lu.se

Efter viss tvekan har jag åtagit mig utmaningen att berätta hur vi visade vad det är som gör att warfarin (Waran®) hämmar blodkoagulationen och minskar risken för att patienter ska få venös trombos. Jag får ta risken att läsaren betraktar det hela som ett bidrag från en bortskämd egocentriker, som dessutom begåvats med tur. I bästa fall kanske jag lyckas förmedla den känsla av nyfikenhet och engagemang, ja rent av glädje, som kan drabba den som ger sig i kast med forskning.

Vägen till laboratoriet

På hösten 1960 började jag läsa medicin. Studierna började med ett års anatomi, vilket bland annat innebar att vi måste plöja igenom tre tjocka böcker på tyska. Vi förväntades lära oss det latinska namnet på varenda litet ben i skelettet, för att inte tala om en massa annat som vi lyckligtvis glömde efter tentamen. Så här i efterhand ter det sig förfärande, raka motsatsen till den intellektuella stimulans som man bör kunna förvänta sig av akademiska studier. Fast med vår skolbakgrund var det inga problem; vi hade ju tvingats att, utantill och på året när, lära oss svenska kungars regeringstider från femtonhundratalet och framåt. Dagens studenter hade gjort revolution.

De följande studieåren var bättre och sakta började det gå upp för oss vad det innebär att vara läkare. För mig blev det klart efter två sommarvikariat, ett vid kirurgiska kliniken i Växjö och ett vid medicinska kliniken i Kalmar. Jag trivdes men måste erkänna att jag inte hade det tålamod, den personlighet som krävdes för att passa som kliniker. Samtidigt som jag var vid medicinska kliniken vikarierade även Jan-Olof Jeppsson där. Han hade just disputerat på en avhandling om transferrin, som jag läste med stort intresse. När vi promenerade ner till Kalmarsund för att bada gled samtalet ofta in på transferrin och dess järnbindande egenskaper. Då såddes nog det frö, som gjorde mig intresserad av proteiner. Jan-Olof skulle med tiden bli överläkare och verksamhetschef vid Kliniskt Kemiska Laboratoriet vid Universitetssjukhuset i Malmö (förr kallat Malmö Allmänna Sjukhus, MAS).

När jag något senare gick kursen i gynekologi vid MAS bestämde jag mig för att bli laboratorieläkare i hopp om att få ägna mig åt forskning. Jag råddes att vända mig till professor Carl-Bertil Laurell vid institutionen för klinisk kemi (Fig. 1, Faktaruta 1). Han gav mig beskedet att jag, för att komma i fråga, måste skaffa mig en basal utbildning i biokemi. Det var ett bra beslut, som fick mig att tillbringa ett år vid Institutionen för Medicinsk Kemi i Lund. Jag lärde mig mycket, inte minst av min kurskamrat Per Fernlund som redan varit där ett par år. Men jag trivdes inte, då jag tyckte mitt projekt var tråkigt. Dessutom hade jag just träffat min blivande hustru, Barbro. Förälskelse och ett tråkigt forskningsprojekt blev för mycket. Jag slutade på laboratoriet och bestämde mig för att snabbt slutföra de medicinska studierna.

Efter legitimationen erbjöd Laurell mig en underläkartjänst vid kliniskt kemiska laboratoriet, vilken jag accepterade med glädje. Som nybliven far började jag i januari 1969. Snart hade jag två vänner på laboratoriet, båda hade disputerat och var intresserade av proteiner. Först kom Jan-Olof Jeppsson och efter ytterligare ungefär ett år Per Fernlund.

Det glöms ofta bort att man för att lyckas i forskning måste ha tur. Det gäller att få ett bra projekt och att komma överens med handledaren. Slutligen måste man få möjlighet att utvecklas på egen hand, att bli självständig. Min handledare blev Per-Olof Ganrot, som nyligen hade disputerat. Efter ett år flyttade han

(Fortsætter side 10)

EXPERTline

... make your work flow

- Reliable & standardised laboratory workflow
- Short reaction times for requests from wards
- Cost reduction for processes
- Disease management concepts
- Innovative parameters
- Sophisticated technical validation and support
- Better compliance and satisfied patients

Sysmex Sverige
Marios Gata 13, 434 37 Kungsbacka
Phone 0300 56 72 02 · Fax 0300 56 72 03
info@sysmex.se · www.sysmex.se

Sysmex Norge
Hvamsvingen 24, 2013 Skjetten
Phone 63 84 01 60 · Fax 63 84 31 40
info@sysmex.no · www.sysmex.no

Sysmex Danmark
Møsvrågej 23 · 6051 Almind
Phone 70 20 45 01 · Fax 70 20 45 41
info@sysmex.de · www.sysmex.dk

sysmex

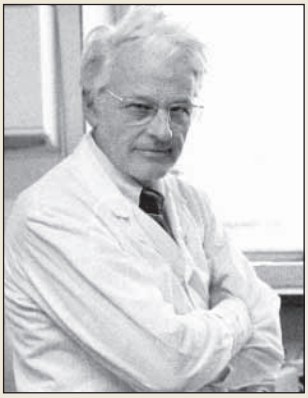


Fig 1. *Professor Carl-Bertil Laurell i laboratoriet. Det var där han trivdes bäst, vilket man nog kan ana från bilden som är tagen i slutet av 1960-talet.*

Faktaruta 1

Hur var det då på kliniskt kemiska laboratoriet vid universitetssjukhuset i Malmö i början av sjuttiotalet? Lokalerna bestod av två plan, ett nedre för provtagning och rutinanalyser och ett övre för forskning. Laurell hade gjort viktiga upptäckter. Redan på fyrtiotalet, under sin tid i Lund, renade han det järnbindande proteinet i blodplasma och gav det namnet transferrin. Han låg också bakom den så kallade raketelektroforesen och den korsade immunelektroforesen (se Faktaruta 2). Laurell var en stark och karismatisk chef och jag har enbart positiva minnen av honom. Han var en omtänksam och god mentor för kolleger och medarbetare vid laboratoriet. Andra var lite försiktiga vid kontakterna med honom, då han kunde upplevas som auktoritär. I själva verket var han en mycket tillbakadragen, kanske rentav blyg, person. Han tycket illa om att föreläsa och åkte till kongresser endast om det var absolut nödvändigt. Om han däremot tyckte att en doktorsavhandling var dålig, så ansåg han att plikten krävde att han extraopponerade vid disputationen. Innerst inne tror jag han avskydde att göra det. När han kom till en disputation sjönk stämningen bland åhörarna, och inte minst respondenten frågade sig nog varför detta skulle drabba just honom. Enligt min uppfattning personifierade Laurell den lutherska pliktmoralen – trots att han hade gått ur statskyrkan första dagen det blev möjligt.

(Fortsat fra side 8)

till Örebro där han blev chef för kliniskt kemiska laboratoriet. Då hade jag redan lärt mig det viktigaste, en del av honom och mycket av två något äldre kolleger som jag delade rum med: Bengt Johansson och Göran Lindstedt. Bengt höll bland annat på med att kristallisera laktoferrin och skulle senare bli överläkare vid klin kem lab i Lund, medan Göran blev professor i klinisk kemi vid Sahlgrenska Sjukhuset i Göteborg. Dessutom hade jag Jan-Olof Jeppsson och Per Fernlund runt hörnet. Jag kände mig fri, men hade ändå en mentor bakom ryggen – Carl-Bertil Laurell. Jag kunde inte ha haft det bättre.

Jag trivdes utmärkt vid laboratoriet i Malmö. Med undantag för ett par år som gästforskare i USA och ett par månader i Japan blev jag kvar till jag pensionerades. Vad mer är – jag har aldrig ångrat det. Jag kanske ska tillägga att jag aldrig var frestad att flytta till Lund. Det kändes som det var högre i tak vid MAS, som dessutom var mindre akademiskt. Man behövde inte ”putsa de akademiska epåletterna”, vilket passade mig som har mina rötter på den småländska landsbygden.

Miljön för forskning var bra vid MAS och den var omvittnat god vid Laurells laboratorium. Chef för medicinska kliniken var professor Jan Waldenström, som samarbetade med Laurell. Vid denna tid var Waldenström sannolikt den svenske medicinare som var mest känd i USA. När jag pratade med kolleger lärde jag mig att det också gjordes stora framsteg vid andra avdelningar. Så t.ex. var professor Inga-Marie Nilssons blodkoagulationsforskning ledande i Sverige, tillsammans med den som bedrevs av makarna Blombäck vid Karolinska Sjukhuset. Även på röntgenavdelningen var det spännande; professor Torsten Almén hade just tagit fram ett röntgenkontrastmedel, som skulle bli det mest använda i världen.

Warfarin – vad gör det?

Det blev min uppgift att försöka ta reda på varför vitamin K antagonisten dikumarol (föregångre till warfarin) hämmar blodets koagulation. Jag insåg genast att det var ett både viktigt och intressant projekt; men hade jag de kunskaper som krävdes för att klara av det? Låt oss först erinra oss bakgrunden.

Vitamin K (K för koagulation) upptäcktes av professor Henrik Dam i Köpenhamn i mitten av trettiotalet, en upptäckt som gav honom Nobelpriset i fysiologi och medicin 1943. Det behöver väl knappast

framhållas att vitamin K antagonisten warfarin fortfarande hör till de mest använda läkemedlen. Men varifrån kommer dikumarol/warfarin?

Dikumarol isolerades i slutet av trettiotalet vid Institutionen för Biokemi vid University of Wisconsin i Madison (beläget nordväst om Chicago), en institution som i decennier var ledande inom vitaminforskning. Den observation som ledde fram till upptäckten av dikumarol gjordes av två veterinärer i norra Wisconsin. De noterade att kor, som ätit möglig sötklöver, kunde få livshotande blödningar. Det var ett stort problem, då mjölk- och ostproduktion var mycket viktigt i Wisconsin (Längst ner på bilskyltarna i Wisconsin står det "America's Dairyland"). Man vände sig till biokemisterna i Madison och bad om hjälp, ett naturligt beslut då jordbruket i Wisconsin var en stor finansiär av institutionen. Vid den tiden var den dessutom den största biokemiska institutionen i USA. Professor Karl Paul Link, en av de ledande biokemisterna, tog sig an problemet (Fig. 2). Efter ett par år hade han renat dikumarol från den mögliga klövern och bestämt dess struktur. Strax efteråt syntetiserade han warfarin. För att testa den biologiska aktiviteten hos dikumarol/warfarin använde han en metod som utvecklats av hematologen A.J. Quick i närbelägna Milawaukee. Metoden var en föregångare till dagen PK(INR) metod. Den som vill veta mer om upptäckten av dikumarol kan läsa Links artikel i Circulation, Journal of the American Heart Association (1)

I Sverige användes dikumarol första gången 1941 vid Sahlgrenska Sjukhuset i Göteborg. Projektet leddes av professor Jörgen Lehmann, som några år senare upptäckte PAS (paraaminosalicylsyra), det första kemoterapeutikum som användes för behandling av tuberkulos (Fig. 3). Lehmann kom från Universitetet i Århus till Lund för att slutligen slå sig ner vid Sahlgrenska Universitetssjukhuset där han blev professor i klinisk kemi.

Lehmann var dikumarolet på spåren, oberoende av Link. Han hade läst artiklarna om den mögliga klövern och bestämde sig för att försökta rena den aktiva substansen. Hö kördes in med häst och vagn till hans laboratorium vid Sahlgrenska. Själv cyklade Lehmann bakom vagnen. Han har berättat att småpojkar ibland sprang efter vagnen och ropade att "där kör dansken". Höet fick mögla och sedan började reningen. Tyvärr fick Lehmann för sent veta vad som hände i USA. Links resultat publicerades i Journal of Biological Chemistry, som under krigsåren kom

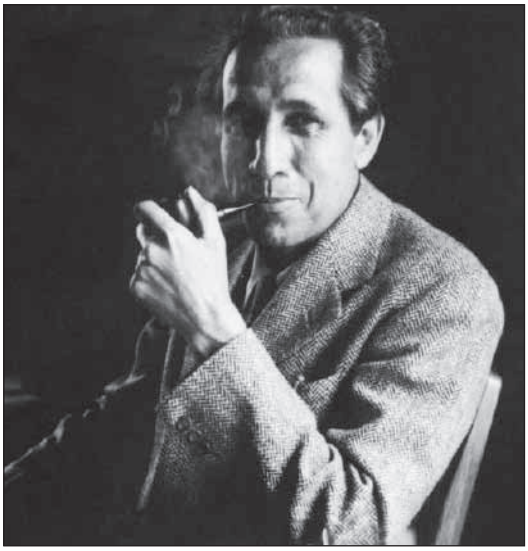


Fig 2. *Professor Karl P. Link vid skrivbordet. Bilden togs av professor Jörgen Lehmann när han besökte Link 1949. Link som hade tuberkulos fick PAS (som inte fanns i USA) av Lehmann och blev frisk.*

Fig 3. *Professor Jörgen Lehmann i laboratoriet.*

till Göteborg med ett halvårs försening (2). Link och medarbetare var således först med att isolera och strukturbestämma dikumarol. När det gällde behandling av patienter med dikumarol var emellertid Lehmann först. Hans resultat publicerades i Läkartidningen innan motsvarande data kom ut i USA (3,4). Några år senare reste Lehmann till USA och besökte Link i Madison. Med sig hade han PAS, som Link var i stort behov av då han led av tuberkulos (PAS var inte tillgängligt i USA). Det var sannolikt enda gången de träffades. Både Link och Lehmann var lysande fors-

(Fortsætter side 12)

(Fortsat fra side 11)

kare och dessutom omvittnat karismatiska personer.

Den hämning av blodkoagulationen som framkallas av warfarin testas nu med PK(INR) metoden. Ju lägre aktivitet hos de K-vitaminberoende koagulationsfaktorerna, desto längre koagulationstid. Orsaken till den förlängda koagulationstiden ansågs vara att de vitamin K beroende proteinernas koncentration sjönk under behandlingen med dikumarol. I slutet av sextiotalet öppnade Per-Olof Ganrot och Jan Niléhn, den senare verksam vid kogulationslaboratoriet vid MAS, ett nytt kapitel i forskningen om antikoagulatia. Laurells nya immunokemiska metoder (Faktaruta 2) gjorde det möjligt för dem att visa att bilden var mer komplicerad än vad man haft anledning att anta baserat på PK(INR) metoden (5).

Protrombin som inte binder kalcium – vad kan det vara?

Plasma från patienter som behandlades med dikumarol undersöktes med raketelektrofores och med korsad immunelektrofores. När de använde raketelektrofores i kombination med ett monovalent kaninantiserum mot protrombin såg Ganrot och Niléhn att protrombinets koncentration inte sjönk i den utsträckning man kunde förvänta sig av PK värdena (5). Med hjälp av den korsade immunelektroforesen kunde de göra två observationer. Det första steget innebär elektrofores i en barbitalbuffert (pH 8,6), som antingen innehåller 2 mM kalciumklorid eller 2 mM EDTA. Den åtföljs av en elektrofores i 90° vinkel mot den första, in i en antiseruminnehållande gel. De såg då att protrombinets elektroforetiska mobilitet påverkades av kalciumjonerna i bufferten – protrombin binder uppenbarligen kalcium (6).

När plasma från patienter, som behandlades med dikumarol, undersöktes sjönk som väntat koncentrationen av det normala protrombinet när behandlingen inleddes. Men Ganrot och Niléhn gjorde ännu en viktig observation. De noterade att dikumarolbehandlingen ledde till bildandet av en annan, låt oss kalla den abnorm, form av protrombin, som till skillnad från den normala, inte binder kalciumjoner (Fig 4A). När koncentrationen av det normala protrombinet minskade så ökade koncentration av den abnorma formen. Om plasman fick koagulera aktiverades det normala protrombinet medan inget hände med den abnorma, icke kalciumbindande formen.

Några månader senare började jag på laboratoriet. Det blev min uppgift att försöka ta reda på varför det bildas en biologiskt inaktiv, icke kalciumbindande form av protrombin när patienter behandlas med dikumarol/warfarin. Ett första steg mot att besvara frågan var förstås att ta reda på vad det är för skillnad i struktur mellan den biologiskt aktiva och den inaktiva formen. Med dagens metoder för proteinrening och masspektrometri av proteiner och peptider hade problemet varit lätt att lösa. För 35 år sedan var det annorlunda. Proteinkemi, och inte minst sekvensbestämning av proteiner, krävde betydande mängder protein. Dessutom saknade vi mycket av den utrustning som behövdes.

Jag måste börja med att rena det abnorma protrombinet. Fem minuters eftertanke visade att det var omöjligt att arbeta med humant material. Det skulle inte gå att få fram de mängder plasma från dikumarol/warfarin behandlade patienter som krävdes för reningen. Vi bestämde oss därför att använda bovin plasma och började med det som var lätt, nämligen att rena det normala protrombinet. Blod, med citrat som antikoagulans, fick vi från ett lokalt slakteri. Protrombinets koncentration är cirka 100 mg per liter plasma och vi fick tiotals liter blod. Vi avskiljde citratplasman från blodkropparna med en separator. Sedan satte vi $BaCl_2$ till plasman, så att olöslig bariumcitrat bildades. Protrombin, liksom de andra K-vitaminberoende koagulationsfaktorerna, bands till bariumcitraten som snabbt sedimenterade vid centrifugering. Efter tvättning av precipitatet eluerade vi med EDTA och fortsatte sedan med jonbyteskromatografi varefter protrombinet var homogent.

Nu var det tid för det abnorma protrombinet. Vi köpte två oxar och hyrde in dem på en gård utanför Malmö. En veterinär injicerade dem med dikumarol och tog blodprover efter några dagar. Test med den korsade immunelektroforesen visade att dikumaroltillförsel, även hos nötkreatur, inducerar syntes av en icke kalciumbindande form av protrombin (Fig. 4B). När koncentrationen av abnormt protrombin var optimal, d.v.s. så hög som möjligt utan att det var risk för blödning, tappades några liter blod.

Om reningen av normalt protrombin var lätt så var reningen av det abnorma protrombinet långdragen och arbetskrävande – det binder ju varken kalcium eller barium och adsorberas således inte till bariumcitrat. Jag måste utveckla en ny metod. För

(Fortsætter side 14)

Faktaruta 2

Laurells nya immunokemiska metoder

Vetenskapliga framsteg är ofta ett resultat av att nya metoder har utvecklats. Ganrots och Niléns upptäckt blev möjlig tack vare två immunokemiska metoder som Laurell tagit fram i slutet av sextiotalet. Tidigare hade man vid kvantitering av proteiner använt den så kallade radiell immundiffusion (Mancinitekniken). Den innebar att man hade en ca 1 mm tjock agarosgel som innehöll ett plyklonalt antiserum mot det protein som skulle kvantiteras, t.ex. α_1-antitrypsin. Provet applicerades i ett runt hål, cirka 4 mm i diameter, varefter proteinerna fick diffundera in i den antikroppsinnehållande gelen över natt. Diametern på det runda immunprecipitat som bildades var ett mått på det aktuella proteinets koncentration. Laurell, som var en ganska otålig person, tyckte det tog för lång tid. Han modifierade därför metoden så att resultatet kunde avläsas efter ett par timmar i stället för följande dag. Det uppnådde han genom att applicera ett elektriskt fält så att proteinerna vandrade in i den antiserum-innehållande gelen (5). Härvid bildades immunprecipitat, som såg ut som raketer (raketmetoden, på engelska electroimmuno assay) och vars höjd relaterade till det aktuella proteinets koncentration. Förutom att metoden var snabbare än den gamla så ökade kapaciteten avsevärt.

Laurells andra metod var den korsade immunelektroforesen som kom att ersätta den traditionella immunelektroforesen. Den senare innebar elektrofores av ett plasmaprov i en agarosgel. Efter elektroforesen skar man en cirka fyra mm bred strimla ur gelen vid sidan av de separerade proteinerna och längs med deras vandringsriktning. Där gelen skurits bort fyllde man på med ett monospecifikt kaninantiserum, varefter de separerade proteinerna och antikropparna fick diffundera mot varandra. Återigen en långsam process, som dessutom innebar att den upplösning som erhållits under elektroforesen till stor del gick förlorad i diffusionssteget. Laurell modifierade metoden så att en cirka fyra mm bred strimla skars ut ur gelen efter elektroforesen, från provets applikationsställe fram till och med prealbumin. Gelstrimlan placerades sedan i en agarosgel, som innehöll ett antiserum mot det protein som skulle studeras. Ett elektriskt fält applicerades så att proteinerna vandrade i 90° vinkel mot den första elektroforesen, d.v.s. in i den anikroppsinnehållande agarosgelen. Immunprecipitat bildades och upplösningen var långt bättre än med den gängse metoden (6). Det innebar t.ex. att man kunde studera aktiveringen av komplementfaktorer eller komplexbildningen mellan ett serinproteas och dess hämmare.

Både raketelektroforesen och den korsade immunelektroforesen fick snabbt en global spridning och användes i ett par tre decennier. Det gjorde att Laurell på sjuttiotalet ibland hörde till de mest citerade författarna inom den medicinska litteraturen.

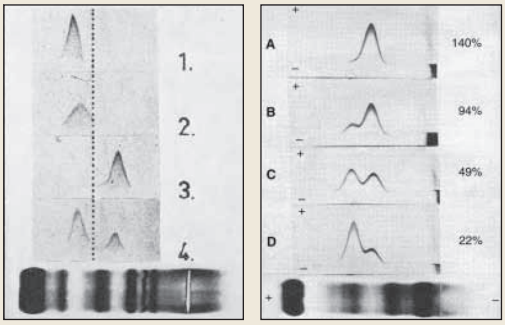


***Fig 4A**. Korsad immunelektrofores av human plasma utförd med ett monovalent antiserum mot humant protrombin (Från P.O. Ganrot och J.-E. Niléhn Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1968; Vol 22; 23-28). 1 och 3 är från en obehandlad patient medan 2 och 4 är från en patient som behandlas med dikumarol. Elektroforesen är utförd med barbitalbuffert, pH 8,6. 1 och 2 är utförd med 5 mM natriumcitrat i bufferten och visar att i frånvaro av fri kalcium är det ingen större skillnad mellan det normala och det abnorma protrombinet. 3 och 4 är utförda med 2,5 mM kalciumlaktat i bufferten. Vid en jämförelse av 3 och 4 ser man hur den normala formen av protrombin har minskat vid dikumaroltillförseln och att det har tillkommit en icke kalciumbindande form (högre anodal mobilitet).*
***B.** Korsad immunelektrofores av plasma från en oxe som behandlades med dikumarol. A, plasma som tagits innan behandlingen inleddes. B, C och D är visar plasmaprover som tagits efter 2, 4 och 7 dagars behandling. Man ser hur koncentrationen av normalt protrombin minskar medan koncentrationen av den abnorma formen successivt tilltar. Till höger anges den biologiska aktiviteten.*

(Fortsat fra side 13)

att klara av den utmaning som låg framför mig hade jag, genom Carl-Bertil Laurells försorg, fått hjälp av en nyutexaminerad och mycket duktig teknisk assistent, Monica Jönsson.

Det normala protrombin, som fanns i plasman från de dikumarolbehandlade oxarna, avlägsnade vi genom fällning med bariumcitrat. Efter centrifugering var det normala protrombinet i precipitatet medan den abnorma, icke kalcium och bariumbindande formen, var i supernatanten. Ungefär två veckors arbete med traditionella metoder återstod innan proteinet var rent. Det innebar fällning med ammoniumsulfat följd av kromatografi på anjonbytare, hydroxylapatit och slutligen gelfiltrering. Proceduren upprepades ett flertal gånger under ett par års tid.

Föga överraskande kvarstod den immunokemiska likheten mellan den normala och den warfarin inducerade formen av protrombin efter reningen. Även skillnaden i kalciumbindande förmåga var oförändrad. Däremot var deras aminosyrasammansättning efter sur hydrolys identisk, vilket vi kunde visa med den aminosyraanalysator som Jan-Olof Jeppsson just hade skaffat till laboratoriet. Även kolhydratsammansättningen verkade vara identisk och alanin var N-terminal aminosyra i båda formerna. Metoden för rening av det abnorma protrombinet och resultaten av den preliminära strukturjämförelsen publicerade vi i Journal of Biological Chemistry 1972 (7,8).

Vad jag då inte visste var att på sidan efter våra två artiklar kom en av professor John Suttie och hans post doc, Dr. Gary Nelsestuen, vid Department of Biochemistry i Madison, Wisconsin (där Link en gång varit verksam). Artikeln beskrev i stort sett samma sak som våra två, även om våra var något mer innehållsrika (9). I artikeln refererade de till ett preliminärt arbete, som jag hade publicerat i Acta Chem Scand ett par år tidigare (10). Det var således två laboratorier som fortsatte det arbete Link hade startat för fyrtio år sedan.

För mig var det en stor sak att publicera i J. Biol. Chem. Det var första gången det kom artiklar till denna renommerade tidskrift från laboratoriet i Malmö. Carl-Bertil översåg också med att projektet låg ganska långt från traditionell klinisk kemi. Han hade uppenbarligen beslutat sig för att låta mig hållas så länge det gick bra.

På våren 1973 disputerade jag på en avhandling som beskrev reningen och karakteriseringen av den dikumarol/warfarin inducerade formen av protrombin. Dessutom hade jag visat att protrombin klyvs av trombin varvid två fragment bildas: ett aminoterminalt, kallat Fragment 1, som omfattar cirka en tredjedel av molekylen (156 aminosyror) och ett karboxyterminalt, Pretrombin 1. Jag kunde också visa att skillnaden i kalciumbindning mellan de två formerna var lokaliserad till Fragment 1 (11).

Vad är det för skillnad mellan normalt och dikumarolinducerat protrombin?

Att skillnaden mellan den normala och den dikumarolinducerade formen av protrombin fanns i Fragment 1 var ett steg mot målet, men det svåraste var kvar.

Vid den här tiden blev jag inbjuden av professor Staffan Magnusson att komma till universitetet i Århus för att hålla föredrag. Staffan hade flyttat till Århus från Karolinska Institutet i Stockholm och hade länge forskat inom blodkogulationen. Dessutom hade han varit ett par år i Cambridge i England för att lära sig det senaste inom proteinkemin, bland annat den så kallade Dansylmetoden för proteinsekvenering. Tillsammans med sina medarbetare höll han på att bestämma protrombinets aminosyrasekvens, ett projekt som de också fullföljde. I mitt föredrag berättad jag om hur vi renat det abnorma, dikumarolinducerade protrombinet och hur jag försökte klargöra vad det var för skillnad i struktur mellan den normala och den abnorma formen.

Det är knappast förvånande att Staffan också var intresserad av att ta reda på vad vitamin K egentligen gör med protrombinmolekylen. Medan min approach var att jämföra strukturen hos normalt och abnormt protrombin, var han inställd på att sekveneringen av det normala protrombinet förr eller senare skulle ge honom svaret på frågan. Han var intresserad av vad jag höll på med och erbjöd mig samarbete. Jag tänkte efter i fem minuter varefter jag avböjde. Jag insåg att jag skulle bli hantlangare åt den mer kände och med större resurser utrustade kollegan. Dessutom hade jag ett ess i rockärmen, nämligen det abnorma protrombinet. Under tågresan genom Danmark mot Malmö funderade jag över mitt beslut, men jag ångrade mig inte.

(Fortsætter side 16)

- Troponin I
- CKMB
- Myoglobin
- CRP*
- D-dimer*
- ßhCG*

* in development

Lab quality at your fingertips

The new AQT90 FLEX immunoassay analyzer

- Cardiac, coagulation, infection and pregnancy markers from a single sample
- Superior analytical performance
- Measures on whole-blood and plasma - no sample preparation
- Automated mixing and measurement
- All tests done in parallel - up to 30 tests an hour
- No contact with blood or waste
- Full connectivity

Simpler, faster, better

RADIOMETER

Denmark
Radiometer Danmark
Åkandevej 21
DK-2700 Brønshøj
Tel: +45 38 27 28 29
Fax: +45 38 27 27 12
www.radiometer.dk

Norway
Bergman Diagnostika AS
P.O. Box 403
N-2001 Lillestrøm
Tel: +47 63 83 57 50
Fax: +47 63 83 57 40
www.bergmandiag.no

Sweden
TRIOLAB AB
Åbäcksgatan 6, Box 2109
SE-431 02 Mölndal
Tel: +46 31 81 72 00
Fax: +46 31 81 72 28
www.triolab.se

Finland
Triolab Oy
Lemminkäisenkatu 20
FI-20520 TURKU
Puh.: +358 201 226 600
Fax: +358 201 226 601
www.triolab.fi

(Fortsat fra side 14)

Väl hemma satte jag igång med att jämföra Fragment 1 från det normala och det abnorma protrombinet på egen hand. Vi började med en enzymatiskt digestion, för det mesta med trypsin, och separerade sedan peptiderna med hjälp av elektrofores på papper under mycket hög spänning, vilken åtföljdes av papperskromatografi. Elektroforesen utfördes i en stor tank med buffert i botten och i ett kärl upptill. För övrigt var tanken fylld med klorbensen och kyldes med vatten som pumpade genom ett par glasrör. Efter elektrofores och färgning av en del av pappret med ninhydrin klipptes den intressanta delen ut och syddes fast vid ett annat papper för efterföljande kromatografi. Åter färgning varefter de intressanta peptiderna eluerades och utsattes för sur hydrolys, aminosyraanalys och eventuellt sekvenering. Vi fick två kromatogram, vilka som väntat till stora delar var identiska (12).

Bland de negativt laddade peptiderna fanns det emellertid klara skillnader i elektroforetisk mobilitet mellan peptiderna från de två formerna av protrombin. Vi koncentrerade oss på två tetrapeptider som visade sig svara mot positionerna sex till nio i protrombin, en från det normala och en från det abnorma protrombinet. Båda hade, efter sur hydrolys, sammansättningen: en valin (Val), en isoleucin (Ile) och två glutaminsyra (Glu). Peptiden från det abnorma protrombinet hade den elektroforetiska mobilitet man kunde förvänta sig från aminosyrasammansättningen, medan den från det normala protrombinet hade en påtagligt högre anodal mobilitet.

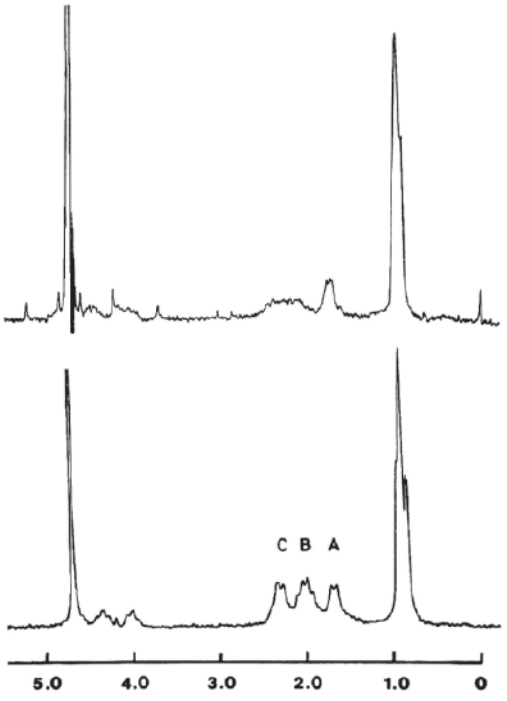


Fig 5. *1H NMR spektra (100 MHz) av den syntetiska tetrapeptiden (nederst) och motsvarande peptid från protrombin (ovanför). Skalan på X-axeln är i ppm. Peptiderna var lösta i D2O. Om man ser på region A så är den närmast identisk i de båda peptiderna medan en jämförelse av regionerna B och C tyder på att peptiden från protrombin har fyra protoner färre.*

Vi upptäcker en ny aminosyra

När vi bestämde sekvensen på peptiden från det abnorma protrombinet fann vi en aminoterminal Ile och en karboxyterminal Val och däremellan de två Glu. I peptiden från normalt protrombin såg vi Ile och Val men ingen Glu. I stället för Glu fick vi en topp i kromatogrammet (HPLC) som vi inte kunde identifiera. Det var uppenbart att de två Glu var modifierade på ett sätt som gav extra negativ laddning. Det krävdes masspektrometri för att få ett svar på frågan. Här tog det stopp för mig. Jag saknade de kunskaper som krävdes för att lösa problemet. Dessutom hade vi ingen masspektrometer.

Jag råddes att kontakta Peter Roepstorff, som var professor vid Universitetet i Odense och ungefär jämnårig med mig. Han var redan då en av de ledande experterna i Europa på masspektrometri. Att bestämma strukturen med masspektrometri var emellertid långt svårare på den tiden än det skulle varit med dagens metoder. Tolkningen av våra spektra var också svår. Ungefär samtidigt vände jag mig till professor Sture Forsén vid Institutionen för fysikalisk kemi vid Tekniska Högskolan i Lund. Han var en ledande expert på NMR i Sverige. Efter en stunds diskussion sammanförde han mig med en post doc från NIH, William Egan. De ansåg att det med hjälp av proton NMR borde gå att identifiera vad det var som var kopplat till glutaminsyraresternas gammakarboxyler.

För strukturstudier med NMR behövdes ungefär ett milligram av peptiden. Dessutom var det för tolkningen av spektra från peptiden från normalt protrombin nödvändigt att jämföra dem med motsvarande spektra från peptiden med omodifierade Glu rester, d.v.s. peptiden från det abnorma protrombinet. Peptiden från normalt protrombin kunde

vi klara av att rena i den mängd som behövdes för NMR. Det var arbetsamt men inte ogörligt; vi fick ju blod från slakteriet. Däremot var det otänkbart att få fram de mängder av den omodifierade peptiden som krävdes för NMR. Det hade krävt att vi köpt ett flertal kor och behandlat dem med dikumarol. Det logiska var förstås att syntetisera peptiden, d.v.s.: Ile-Glu-Glu-Val. Problemet var att jag saknade erfarenhet av peptidsyntes.

Ungefär ett år tidigare hade Per Fernlund flyttat från institutionen för medicinsk kemi i Lund till kliniskt kemiska laboratoriet vid MAS. Hans forskning vid institutionen för medicinsk kemi hade givit honom stor erfarenhet av peptidsyntes. Jag lyckades intressera honom för projektet och han började genast syntetisera den tetrapeptid, som behövdes som kontroll vid NMR studierna.

Med peptiderna i fickan åkte Per och jag till Lund och fick Willam Egan att titta på dem med proton NMR. Nu kom nästa överraskning (Fig. 5). Peptiden från normalt protrombin hade färre protoner än motsvarande syntetiska peptid – varje glutmainsyrarest hade två protoner färre på γ-karboxylen. Hur kunde det vara förenligt med att den hade samma aminosyrasammansättning efter sur hydrolys som peptiden från det abnorma proteinet och dessutom en högre anodal mobilitet vid högspänningselektrofores, d.v.s. hade mer negativ laddning än den syntetiska peptiden?

Jag kunde i stort sett ingenting om NMR spektrometri och var förbryllad. Även William Egan kliade sig i huvudet. Men rätt som det var gick det upp för Per. Plötsligt utbrast han: ”Det måste vara γ-karboxyglutaminsyra”. Det innebar att båda Glu resterna i peptiden från det normala protrombinet hade en extra karboxylgrupp på γ-kolet (Fig 6). Glu har två protoner på γ-kolet. Med ytterligare en karboxylgrupp på γ-kolet blir den modifierade Glu resten ett malonsyraderivat, vilket innebär att den

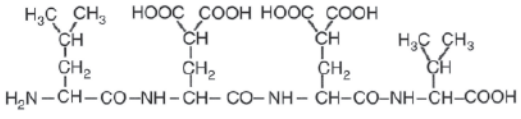


Fig 6. *Strukturen hos tetrapeptidens från protrombin: Leu-Gla-Gla-Val. Den extra karboxylen hos Gla jämfört med Glu gör att kvarvarande proton på gammakolet blir utbytbar mot en proton från lösningen, D_2O. Varje Glu rest har således förlorat två protoner som framgår av NMR spektra.*

enda kvarvarande protonen får ett lågt pK. Eftersom proton NMR utförs i D_2O kommer den att bytas ut mot D och följaktligen kommer det inte att synas någon proton på γ-kolet i peptiden från normalt protrombin.

Per och jag kontaktade Peter Roepstorff och berättade för honom vad som hänt. Han kontrollerade genast sina masspektra och fann att de var helt förenliga med γ-karboxyglutaminsyra. Vi tog genast tåget till Odense för att stilla vår nyfikenhet.

En viktig egenskap hos malonsyra är att den dekarboxyleras när den värms upp under sura betingelser, något man ofta använder sig av vid organisk syntes. Det förklarar varför upphettning av peptiden från protrombin under sura betingelser ledde till dekarboxylering av Gla resterna med Glu som resultat. Om man däremot upphettar peptiden under alkaliska betingelser sker inte detta (Fig. 7). Dekarboxyleringen under sura betingelser förklarar naturligtvis också varför vi, efter sur hydrolys, fick en identisk aminosyrasammansättning på tetrapeptiden från normalt protrombin och peptiden från det abnorma protrombinet.

Upptäckten av γ-karboxyglutaminsyra, som kom att kallas Gla, var ett viktig steg framåt. Dess förekomst i normala K-vitaminberoende koaguations-

(Fortsætter side 18)

Fig 7. *Högspänningselektrofores vid pH 6,5 av syntetisk tetrapeptid (Leu-Glu-Glu-Val, position sex till nio) och motsvarande peptid från normalt protrombin. S är kontroller och avser två obehandlade prov. A och B är den syntetiska tetrapeptiden medan C och D är motsvarande peptid från protrombin. Peptiderna (ca 20 nmol) löstes i 0,1 M HCl och evaporerades sedan till torrhet i rumstemperatur. Därefter förseglades glasampullerna under N2 och värmdes till 150° i 10 min varefter de öppnades och peptiderna löstes upp och analyserades med högspänningselektrofores vid pH 6,5. A och C är peptiderna före uppvärmning medan B och D är de uppvärmda peptider. Den värmda peptiden från protrombin har uppenbarligen förlorat negativ laddning och blivit identisk med den syntetiska peptiden. Den hade dekarboxylerats.*

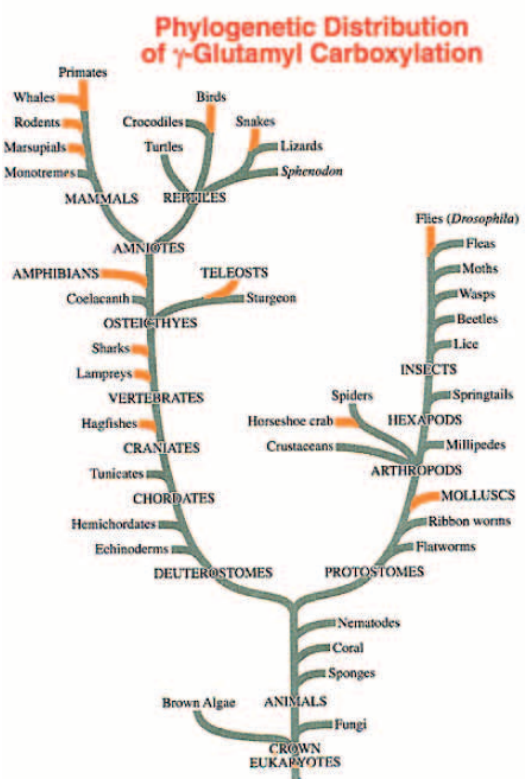


Fig 8. *Det fylogenetiska trädet med vertebrater på den vänstra grenen och skaldjur och insekter på den högra. Species där man funnit γ-karboxylkarboxylering är markerade med orange. Förutom hos vertebrater har enzymsystemet hittats hos mollusker, hästskokrabba och Drosophila.*

(Fortsat fra side 17)

faktorer är orsak till att de normala formerna binder kalcium, att de kan interagera med biologiska membraner och att de är biologiskt aktiva. Motsvarande dikumarol/warfarin inducerade former binder däremot inte kalcium och är inaktiva. Vi, d.v.s. Willian Egan, Per Fernlund, Peter Roepstorff och jag, beskrev fynden i en artikel som kommunicerades till Proc. Natl. Acad. Sci USA av professor Sune Bergström vid Karolinska Institutet (13). Något senare beskrev vi fynden i mer detalj (14).

En fråga man kan ställa sig är hur vi, verksamma vid ett kliniskt kemiskt laboratorium vid MAS, kunde komma först med upptäckten av Gla. Vi hade två konkurrenter, dels Staffan Magnusson och medarbetare vid Universitetet i Århus, dels Gary Nelsestuen, som nu hade flyttat från Madison till University of Minnesota i St Paul. Båda hade rimligen större resurser än vi och båda använde sig liksom vi av masspektrometri. För mig ter det sig uppenbart att det som avgjorde saken till vår fördel var att vi använde oss av NMR. Och för att det skulle gå var det nödvändigt att vi fick fram en liten peptid (tetrapeptid) med två Gla från det normala protrombinet, och det i de kvantiteter som krävdes för NMR. Dessutom krävde tolkningen av spektra att vi hade den syntetiska peptiden med Glu i stället för Gla i motsvarande mängder. William Egans NMR kunskap och Per Fernlunds peptidsyntes och kunnande i kombination med Peter Roepstorrfs masspektrometri gjorde att vi kunde lösa problemet.

Två föredrag

Ett par veckor efter att vi skickat in vårt arbete för publicering blev jag inbjuden till årets Boerhavekonferens i Leiden i Nederländerna. Ämnet för året var ”Protrombin and Related Coagulation Factors”. Flertalet av den tidens experter på blodkoagulation var på plats. För första gången träffade jag John Suttie.

Jag höll mitt första föredrag utanför Skandinavien och det gick bra. Jag var inte särskilt nervös och har egentligen aldrig varit det när jag hållit föredrag. Jag berättade om hur det abnorma protrombinet hade upptäckts av Ganrot och Niléhn och hur jag sedan hade renat det och jämfört det med det normala, vilket ledde till att vi fann den tidigare okända aminosyran, Gla. Lyssnarna var uppenbart nyfikna och engagerade och jag minns att vid kaffepausen efter mitt föredrag så kom en holländsk kollega fram till mig och frågade om jag insåg att jag hade hållit det viktigaste föredraget i mitt liv. Det kunde jag inte gå med på, men så här trettiofem år senare måste jag motvilligt ge honom rätt.

Förutom John Suttie var Staffan Magnusson i Leiden och lyssnade på mitt föredrag. Kvällen innan kongressen åt vi alla middag tillsammans. Jag tog John och Stafan avsides och berättat att vi hade hittat en ny aminosyra, Gla, och visat att den utgjorde den K-vitaminberoende strukturen i protrombin. Gissa om de den kvällen ringde hem till sina medarbetare och berättade om Gla. Jag berättade det för att jag inte ville att de skulle bli överrumplade av mitt föredrag, utan kritiskt kunna ta del av det. De hade emellertid inga invändningar efter att ha hört mig utan verkade helt övertygade. Nu var deras mass-

spektra lätta att tolka och de kunde snart skicka in sina arbeten för publicering (15, 16).

En dryg månad senare fick jag en inbjudan att hålla föredrag vid ett möte om proteolytiska enzymer vid Cold Spring Harbor Laboratoriet på Long Island söder om New York. Jag gav mig iväg på min första resa till USA och ett möte med de ledande forskare, som sysslade med proteolytiska enzymer och blodkoagulation. Nybliven chef för Cold Spring Harbor Laboratoriet var den tidens mest omsusade biomedicinska forskare, James D. Watson; han som med Francis Crick hittade den dubbla DNA spiralen.

Watson var med på föreläsningarna. Han satt alltid längst till höger på andra eller tredje raden. Samtidigt som han lyssnade på föredragen läste han New York Times, som han höll uppslagen framför sig. Jag fick veta att han brukade göra så; han ansåg sig ha tillräcklig simultankapacitet för att göra båda sakerna samtidigt. Om man hade påpekat för honom att det kanske kunde distrahera föredragshållaren eller auditoriet, så är jag säker på att han inte hade tagit intryck av det. Watson har i decennier kommit att personifiera den exceptionellt begåvade, framgångsrike och tillika egocentriske forskaren. Han tycktes mig precis så färgstark som han beskrivits. Dessutom upptäckte jag snart att hans intellektuella briljans var parad med en mekanisk fumlighet som var närmast komisk. Han försökte då och då knyta sina skosnören – det gick bara inte. Att mitt föredrag gick bra utgår jag från, då jag en stund efteråt fick ett kort av Watson där det stod ”You are cordially invited for cocktails at five o´clock on Thursday, at the home of Jim and Liz Watson”. Jag har inga speciella minnen från detta mitt första cocktailparty. Inte så konstigt då jag förmodar att jag försökte leva upp till tidens etikett. Det gällde att, med en cocktail i ena handen och en tallrik med snacks i den andra, mingla och inte pratade mer än tre minuter med en och samma person.

Med Gla på plats

Det fanns mycket kvar att utreda. Vi visste inte hur karboxyleringen av glutaminsyraresterrna gick till och inte hur vitamin K var inblandat. Inte heller visste vi varför bara de tio till tolv N-terminala Glu resterna karboxyleras; det finns ju massor av andra Glu rester i dessa proteiner. Men det är en annan historia.

För några år sedan gjordes den intressanta upptäckten att det karboxylerande enzymsystemet finns hos *Drosophila melanogaster*. Vad det gör i bananflugan, som saknar både blodkoagulation och mineraliserad vävnad, är fortfarande oklart. Iakttagelsen visar dock att detta mycket komplicerade enzymsystem fanns innan evolutionen hade delat upp vertebraterna och krustacéerna från varandra (Fig 8). Vilken var den ursprungliga funktionen för detta mycket komplicerade enzymsystem? Kanske en utmaning för någon forskare ur nästa generation med intresse för vitamin K?

Några personliga slutsatser

För att lyckas med forskning ska man helst vara ung och envis. Sedan är det aldrig fel att ha lite tur. Om man inte gjort sin upptäckt innan 35 eller senast 40 års ålder är det osannolikt att det blir någon. Den intellektuella skärpan minskar med åren och dessutom förmågan att bli entusiasmerad. Man måste också kunna vara totalt fokuserad på det egna projektet och inte ta några andra hänsyn, alltså gärna egocentrisk och lite rebellisk. Äldre forskare traskar på enligt sina sedan länge utlagda linjer. Det leder sällan till nyskapande upptäckter. Med åldern får man nöja sig med att försöka vara en god mentor för unga forskare, vilket är nog så viktigt.

Jag behöver väl knappast tillägga att jag känner en stor tacksamhet mot dem som stöttade mig i min forskning som ledde fram till Gla. Jan-Olof Jeppsson kom med nya metoder och ny kunskap till laboratoriet. Och utan Per Fernlunds hjälp under ”uppploppet” mot Gla hade det sannolikt gått allt för långsamt att komma i ”mål”. På samma sätt var William Egans NMR studier och Peter Roepstorrfs masspektrometri en förutsättning för att det skulle gå att visa att Gla är den K-vitaminberoende strukturen i protrombin. Monica Jönsson, min excellenta tekniska assistent, var med från början till slut. Jag kände också hela tiden att jag hade stöd från Carl-Bertil Laurell. Och slutligen måste jag erkänna att utan min hustru Barbro, en malmötjej, hade det nog aldrig blivit någon forskning för mig – utan henne hade jag sannolikt lämnat Malmö/Lund efter avklarade studier.

Jag är pensionär sedan två år men gör ingen hemlighet av att jag fortfarande tycker om att gå till laboratoriet, trots att ingen kan bli upphetsad av den forskning jag nu håller på med.

(Fortsætter side 20)

(Fortsat fra side 19)

Referenser

1. Link KP. The discovery of dicumarol and its sequels. Circulation 1959; 79: 97-107.
2. Campbell HA, Roberts WL, Smith WK, Link KP. Studies on the hemorrhagic sweet clover disease. I. The preparation of hemorrhagic concentrates. J. Biol. Chem. 1940; 136: 47-55.
3. Lehmann, J. Försök till kurativ och profylaktisk behandling av tromboser med ett per os preparat. Läkartidningen 1942; 39: 73-99.
4. Meyer OO, Bingham JB, Pohle FJ. The effect of the synthetic dicoumarin 3,3´-methylene-bis(4-hydroxycoumarin) on the prothrombin time and coagulation time. Journal of the American Medical Association 1942; 118: 1003
5. Ganrot, PO, Niléhn, JE. Plasma prothrombin during treatment with dicumarol. I. Immunochemical determination of its concentration in plasma. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1968; 22: 17-22.
6. Ganrot, PO, Niléhn, JE. Plasma prothrombin during treatment with dicumarol. II. Demonstration of an abnormal prothrombin fraction. Scand. J. Clin. Lab. Invest. 1968; 22: 23-28.
7. Stenflo J, Ganrot PO. Vitamin K and the biosynthesis of prothrombin. I. Identification and purification of a dicoumarol-induced abnormal prothrombin from bovine plasma. J. Biol. Chem. 1972; 247: 8160-8166.
8. Stenflo J. Vitamin K and the biosynthesis of prothrombin. II. Structural comparison of normal and dicoumarol-induced prothrombin. J. Biol. Chem. 1972; 247: 8167-8175.
9. Nelsestuen GL, Suttie JW. The epurification and properties of an abnormal prothrombin protein produced by dicumarol-treated cows. A comparison to normal prothrmbin. J. Biol. Chem. 1972; 247: 8176-8182.
10. Stenflo J. Dicumarol-induced prothrombin in bovine plasma. Acta Chem. Scand. 1970; 24: 3762-3763.
11. Stenflo, J. Vitamin K and the biosynthesis of prothrombin. III. Structural comparison of an NH2-terminal fragment from normal and from dicoumarol-induced bovine prothrombin. J. Biol. Chem. 1973; 248: 6325-6332.
12. Stenflo, J. Vitamin K and the biosynthesis of prothrombin. IV. Isolation of peptides containing prosthetic groups from normal prothrobmin and the corresponding peptides from dicoumarol-induced prothrombin. J. Biol. Chem. 1974; 249: 5527-5535.
13. Stenflo J, Fernlund P, Egan W, Roepstorff P. Vitamin K dependent modifications of glutamic acid residues in prothrombin. Proc. Natl. Acad. Sci. USA . 1974; 71: 2730-2733.
14. Fernlund P, Stenflo J, Roepstorff P, Thomsen J. Vitamin K and the biosynthesis of prothrombin. IV. γ-Carboxyglutmic acids, the vitamin K-dependent structures in prothrombin. J. Biol. Chem. 1975; 250: 6125- 6133.
15. Nelsestuen GL, Zytkovicz TH, Howard JB. The mode of action of vitamin K. Identification of γ-carboxyglutamic acid as a component of prothrombin. J. Biol. Chem. 1974; 249: 6347-6350.
16. Magnusson S, Sottrup-Jensen L, Petersen TE, Morris HR, Dell A. Primary structure of the vitamin K-dependent part of prothrombin. Febs. Lett. 1974; 44: 189-193.
17. Stenflo J, Suttie JW. Vitamin K-dependent formation of γ-carboxyglutamic acid. Ann. Rev. Biochem. 1977; 46: 157-172.

Identical twins?
Look beneath the surface.

There's always more to a picture than meets the eye. What may appear similar or even identical, isn't. Looking beneath the surface is what Ortho Clinical Diagnostics have been doing for nearly 70 years. Finding answers and providing the global healthcare community with the means to make better-informed decisions.

The VITROS® 3600 Immunodiagnostic System combines three high-quality proprietary technologies into a single system that is self-monitoring, highly efficient, and best of all, easy to use. With minimal staff interventions and reduced error potential, you get quality results.

The VITROS 5600® Integrated System consolidates testing like never before with Sample Centered Processing, 5 proven VITROS® technologies, and over 100 assays onboard. So you get performance and quality that improve the lab—and results that touch lives.

Ortho Clinical Diagnostics
a Johnson & Johnson company

VITROS® System Immunodiagnostic 3600 VITROS® System Integrated 5600

Labmed 2010 *News* Nr. 3

XXXII Nordic Congress in Medical Biochemistry
Facts of today - visions for tomorrow
Oslo, June 1-4 2009

General information
Find updated information on **www.labmed2010.no**

A taste of the scientific program

How to diagnose and monitor multiple myeloma and related disorders

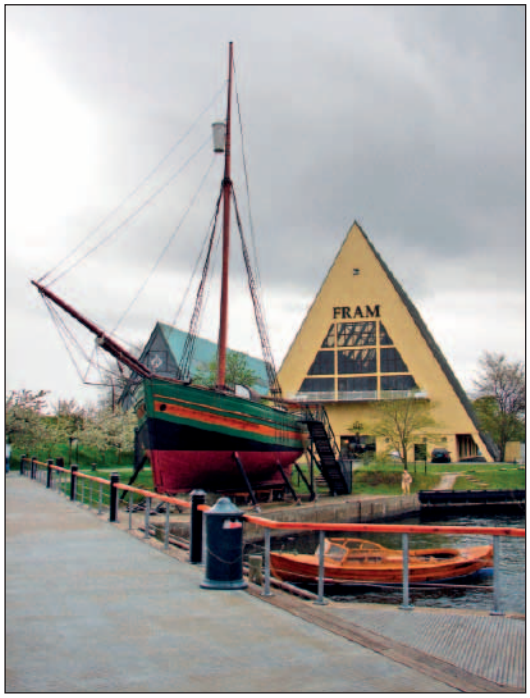
Multiple myeloma (MM) and related monoclonal gammopathies have for decades been diagnosed and monitored through the combined use of different assays and techniques, such as electrophoresis and immunofixation of serum and urine, and direct measurement of immunoglobulins G, A and M. To standardize the use of these assays, guidelines have been developed regionally, e.g. in the Nordic countries, and internationally. Following introduction in 2002 of methods for direct measurement of free light immunoglobulin chains kappa and lambda in serum, there has been an increased debate on how now to best use the various assays available. New knowledge led the International Myeloma Working Group to recently revise their guidelines (Guidelines for serum-free light chain analysis in multiple myeloma and related disorders, Leukemia Nov. 2008, 1-10). It now appears that different types of gammopathy (low-secretory, light chain or other types of MM, amyloidosis, MGUS) and different types of situations (diagnosis, prognosis, monitoring of treatment effect) require different combinations of assays to be used.

In this seminar we will present the publications underlying the guidelines given, evaluate the strength and weakness of the various assays and discuss how they best may be used in a cost-effective way.

Oslos nya operahus.

Fram Museum

The Polar Ship Fram



FRAM was the safe haven for some of the most famous polar explorers and adventurers. She is the strongest wooden ship ever built and still holds the records for sailing farthest north and farthest south. FRAM and the breathtaking stories from her expeditions continue to create excitement among audiences from all over the world almost 100 years after the ship retired from active duty.

You are welcome to come aboard the ship and to see how the crew and their dogs lived and managed to survive in the coldest and most dangerous places on earth - the Arctic and the Antarctic. The exhibition is translated into nine languages: English, French, German, Italian, Spanish, Russian, Japanese, Chinese and Norwegian.

Bootstrap – slik fungerer det

Johan Bjerner, Fürst Medisinsk Laboratorium, Oslo
jbjerner@furst.no

Bootstrap er en statistisk metode som baserer seg på tilfeldig (på svensk "slumpvis") trekning av dataobservasjoner (såkalt resampling). Ved å bruke bootstrap kan en lage konfidensintervaller for komplekse beregninger, som det ellers hadde vært umulig å lage konfidensintervaller for. Artikkelen er tenkt å gi en oversikt over bootstrap uten formler.

Fordelinger og estimatorer

Mange ganger har våre observasjoner en bestemt fordeling, som f.eks. normalfordeling (albuminkonsentrasjonene i en populasjon), log-normalfordeling (TSH-konsentrasjonene i en populasjon), poissonfordeling (antallet blodtransfusjoner per dag på sykehuset), eksponentialfordeling (tid mellom to prøvesvar) eller cauchy-fordeling (usikkerheten i PSA-ratio). Selv om vi kjenner mange fordelinger, er fordelingen mange ganger dog ukjent. Mange ganger ønsker vi å beskrive våre observasjoner med et tall, for å gjøre dem enklere eller for å sammenlikne oss med andre. Et slikt tall som er hentet fra et sett med observasjoner benevnes estimator (på engelsk av og til "statistic"). Vanlige estimatorer er gjennomsnitt og standardavvik, men det er ikke sjelden at vi ønsker mer komplekse estimatorer:

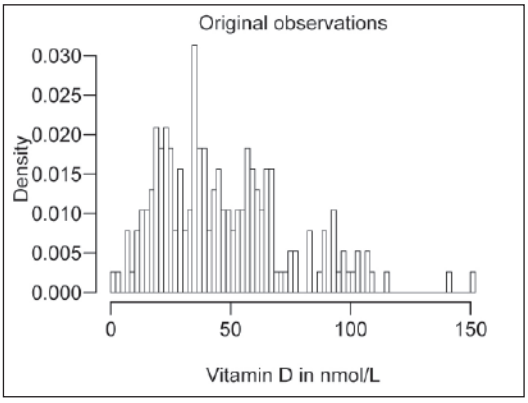
- Prosent av prøvene besvart innen 60 minutter
- Antall pasienter med liggetid lenger enn "garantitid"
- Nedre kvartil for D-vitaminkonsentrasjonen i serum

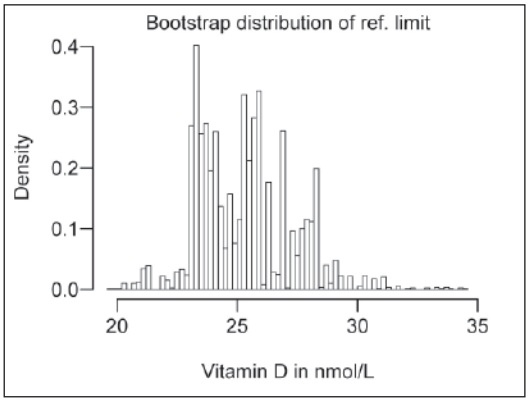
Konfidensintervaller

Klassisk statistikk har verktøy for å lage konfidensintervaller dersom fordelingen er kjent og estimatoren enkel. Vi kan lage et konfidensintervall for gjennomsnittet til en normalfordeling uten større vansker. Hvis fordelingen er ukjent og estimatoren fortsatt enkel, kan vi ofte bruke såkalt ikke-parametriske metoder. Det finnes en del metoder for å lage konfidensintervaller på gjennomsnittet fra en ukjent fordeling. Hvis estimatoren er kompleks, f.eks nedre kvartil eller et tall i prosent blir det mye vanskeligere å finne klassiske metoder for å finne konfidensintervaller. Hvis kombinasjonen er en kompleks estimator og en ukjent fordeling, da må vi nok innrømme at klassiske metoder har lite å gi.

Bootstrap

Bootstrap er en metode for å lage konfidensintervaller som kan brukes i alle tilfeller, selv om fordelingen er ukjent og estimatoren kompleks. I dette tilfelle har vi målt D-vitaminkonsentrasjonen i serum hos 193 pasienter (Figur 1). Fordelingen av pasientresultatene





er slik at vi neppe kan bruke en kjent fordeling som normalfordelingen for å beregne kvartilen med konfidensintervaller. Nedre kvartil fra de 193 pasientene vil være 25,22 nmol/L. Et 95 % konfidensintervall kan beregnes med binomialfordelingen og tilsvares av observasjon nr 37 (22,5 nmol/L) og observasjon nr 60 (29,32 nmol/L). Alternativt kan vi bruke bootstrap. Vi trekker nå 193 tilfeldige observasjoner fra de 193 pasientene (like mange trekninger som det opprinnelige antallet observasjoner). Vi har med tilbakelegging, slik at observasjonene kan bli trukket to eller flere ganger. I den første trekningen ble 71 pasienter aldri trukket, 71 pasienter ble trukket en gang, 35 pasienter ble trukket to ganger, 12 pasienter ble trukket tre ganger, tre pasienter ble trukket fire ganger og en pasient ble trukket fem ganger. Fra dette settet av 193 tilfeldig trukne observasjoner beregner vi nedre kvartil en gang til. Denne kvartilen vil kanskje skille seg litt fra kvartilen i utgangsmaterialet.

Vi gjentar nå dette et stort antall (5000 ganger). Vi har nå fått 5000 forskjellige kvartiler. Vi sorterer disse kvartilene etter størrelse, med den laveste først og den høyeste sist (Figur 2). Vi har nå at den nedre kvartilen for D-vitaminkonsentrasjonen tilsvarer observert kvartil nr 2500 og et 95% konfidensintervall strekker seg fra observert kvartil 0,025*2500 = 125 til observert kvartil nr 0,975*2500 = 4875. Bootstrap gir et estimat på nedre kvartil på 25,27 nmol/L (ikke langt unna det opprinnelige 25,22) og med et 95% konfidensintervall på 21,88 – 29,32 nmol/L. Hvis vi ønsker å uttrykke oss mer presist har vi lagd et estimat for nedre kvartil ved ordinær bootstrapping (engelsk "ordinary", hvilket betyr at vi har trukket alle observasjoner med samme sannsynlighet) og vi har konstruert et konfidensintervall med persentilmetoden (vi har latt 2,5 og 97,5-persentilene av våre trukne observasjoner danne konfidensintervallet). Dette er den vanligste bruken av bootstrap og denne er implementert i RefVal, et beregningsprogram for referanseintervaller.

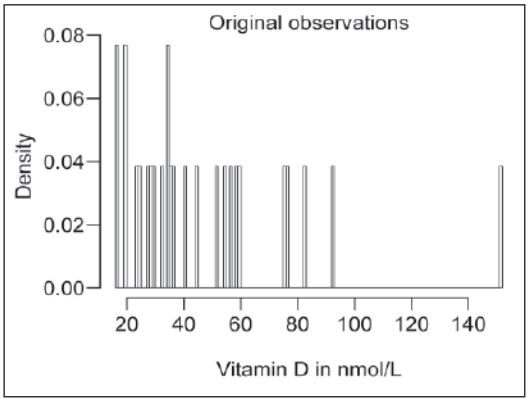
Foto: Henrik Alfthan

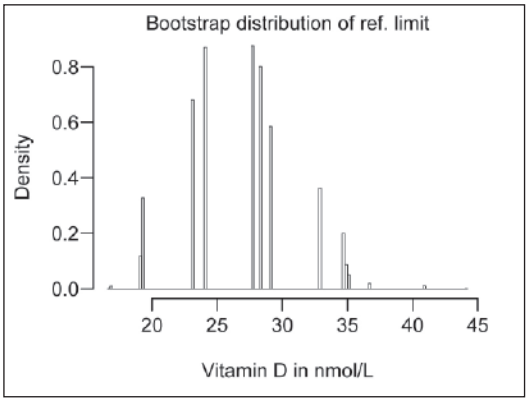
Fallgruber ved bootstrapping

Det må være tilstrekkelig antall observasjoner i utgangsmaterialet.

I dette tilfellet hadde vi 193 observasjoner og ville beregne nedre kvartil. Denne gangen har vi kun 27 pasienter (Figur 3 og 4). Vi får et estimat på nedre kvartil på 26,53 nmol/L med et konfidensintervall på 19,11 – 34,93 nmol/L med persentilmetoden. Konfidensintervallet (med persentilmetoden) baserer

(Fortsætter side 26)





(Fortsat fra side 25)

seg kun på de observasjoner vi har sett, og risikerer å være unøyaktig ved få observasjoner. Binomialfordelingen vil ha samme problem. Dette er et reelt problem med RefVal, som ofte gir deg falsk for trange konfidensintervaller for referanseintervaller når du har få observasjoner. Med 27 personer vil 7 personer være under nedre kvartil, tilstrekkelig for å få et passe estimat av nedre kvartil. Konfidensintervallet vil dog strekke seg fra pasient nummer 3 til pasient nummer 12 og det skal ikke så mye til for at slengere eller undergrupper av pasienter skal påvirke konfidensintervallet. Med 193 personer vil vi ha 48 personer under nedre kvartil og dermed kan vi både gi et trygt estimat og trygge konfidensintervaller. Hvis vi isteden hadde ønsket å beregne 1%-persentilen for D-vitamin, hadde også 193 personer vært for få . Jo lenger bort fra medianen vi kommer, jo flere observasjoner trenger vi.

Foto: Henrik Alfthan

Ved få observasjoner bør en beregne konfidensintervallet med hjelp av gjennomsnittsverdi og standardavvik. Denne metoden er dog avhengig av fordelingen i utgangsmaterialet. Hvis denne er skjevfordelt, så bør den transformeres til noe som er i nærheten av en normalfordeling. Å logaritmere observasjonene er en god ide. Vi skal nå beregne nedre kvartil for D-vitaminkonsentrasjonene for gruppen med 27 pasienter. Først logaritmerer vi D-vitaminkonsentrasjonene. Så foretar vi 5000 trekninger som tidligere. Hvis observasjonene i utgangspunktet var relativt nær normalfordeling, vil også de 5000 trukne nedre kvartilene være det (!). Estimatet er gjennomsnittet eller observasjon nr 2500 (siden materialet er normalfordelt er median og gjennomsnitt omtrent det samme). Konfidensintervallet beregner vi dog gjennom å gå 1,96 standardavvik opp og ned fra gjennomsnittet. Til sist anti-logaritmerer vi oss tilbake til opprinnelige konsentrasjonsnivåer. Denne fremgangsmåten er generelt mer stabil ved små utvalg. Konfidensintervallet med denne metoden ble 20,42 – 34,47 nmol/L, heldigvis veldig likt konfidensintervallet med persentilmetoden.

Trekningen må være foretatt med et program som har en tilstrekkelig god generator av tilfeldige tall.

Riktigheten av bootstrap er direkte avhengig av kvaliteten på de tilfeldige tall som brukes. Datamaskinen/beregningsprogrammet er utstyrt med en generator for tilfeldige tall, en såkalt ”Pseudo-Random Number Generator” (PRNG). En av ulempene er at enhver PRNG vil ha en innebygd ”periodisitet”, f.eks kan en type PRNG etter å ha generert 12048 tilfeldige tall starte på nytt igjen. For den som liker å telle kort i Black Jack er det nok en god gjetning at det 12048-nde tallet nok er det eneste tallet som ikke tidligere har stått på listen. En stygg bivirkning av periodisiteten er også at statistiske beregninger som for eksempel bootstrap vil bli feil om periodisiteten er for kort. Hvis vi trekker 12 048 000 tilfeldige tall fra PRNG ovenfor vil hvert tall forekomme eksakt 1000 ganger. Med ”ekte” tilfeldige tall hadde dette selvfølgelig variert. Jeg kan bare kort nevne at periodisiteten i den PRNG som finnes i MS Excel er meget kort… Statistisk programvare bør oppgi hvilken PRNG som brukes, og PRNG bør være validert. Å validere en PRNG er faktisk ikke så mye verre enn å teste hastigheten på bredbåndsforbindelsen. De mest populære

valideringsprogrammene (gratis) er ”DieHard” og ”DieHarder” som er en samling av alle mulige statistiske tester for tilfeldige tall.

Bagging (bootstrap aggregating)

En interessant bruk av bootstrap er for å undersøke modellstabilitet. Medisinske studier er ofte utstyrt med en p-verdi. Denne p-verdien er oftest generert gjennom en statistisk test og står for sannsynlighet for at resultatene kunne ha inntruffet tilfeldig, gitt at den statistiske modellen er riktig og gitt at resultatene er korrekt behandlet (”outliers”/slengere er identifisert og fjernet, m.m.). Med andre ord sier vanligvis ikke en p-verdi noe om hvorvidt jeg har valgt riktig statistisk modell og hvorvidt min behandling av slengere påvirker sluttresultatet. Bagging kan ikke vise hvorvidt en modell er riktig, men bagging kan vise at en valgt modell er ustabil og resultatene derfor usikre. Ved bagging trekker en observasjoner ved bootstrap og gjentar deretter alt man har gjort, eliminasjon av slengere, statistiske bearbeidinger for hver og en av de 10000 datasettene. Bagging krever derfor en del programmeringskunnskaper. Jeg skal gi et fiktivt eksempel på bagging:

Vi studerer mannlige fertilitetshormoner, og lager en multivariat modell hvor testosteron er utfallsvariabel. De andre variablene er SHBG, albumin, alder, røyking, alkohol, FSH, LH. Vi finner at FSH er høysignifikant ($p<0.001$) og LH er ikke signifikant ($p=0.18$). Det er lett å trekke den feilaktige konklusjonen: FSH er signifikant assosiert med testosteron, men ikke LH… Ser du hvorfor den konklusjonen er feil?

Vi må huske at disse p-verdiene gjelder gitt at modellen er riktig og stabil. Vi vet jo at FSH og LH er sterkt korrelert, dvs at høye FSH og LH oftest forekommer sammen. Vi foretar ”bagging” og får et relativt uventet resultat. I 72% av tilfellene kommer FSH ut som høysignifikant ($p<0.001$) og LH som ikke signifikant, og i 28% av tilfellene kommer LH ut som høysignifikant ($p<0.001$) og FSH som usignifikant. Vår modell er ustabil. Riktig konklusjon er altså: Enten FSH eller LH er signifikant assosiert med testosteron i en multivariat modell, men vi har ikke nok data for å avgjøre hvilken av de to som er den signifikante og hvilken som er den usignifikante. Dette er en variant av ”forskjellen mellom en signifikant og en usignifikant variabel er ikke alltid signifikant”…

Hvordan kan jeg bruke bootstrap?

Du kan programmere selv, husk dog bruk av riktig PRNG. Jeg vil dog ikke anbefale dette. Det beste er å bruke en statistisk programvare eller programmeringsspråk som har innbygget funksjoner for bootstrap. Jeg bruker R (eller S-plus) og som har en pakke ”boot” med funksjoner skrevet av Canty. En har da tilgang til forskjellige varianter å trekke data på utover ordinær bootstrapping og forskjellige måter å beregne konfidensintervaller. RefVal bruker bootstrap for beregning av konfidensintervaller for referanseintervaller, men den algoritme som brukes i RefVal har en del svakheter. Jeg har satt opp en variant on-line (som er den som er brukt i eksemplene oven), hvor en kan bruke forskjellige måter å lage konfidensintervaller på. Denne er tilgjengelig på www.sjcli.org. Prøv den gjerne!

Takk til Pål Rustad, Fürst Medisinsk Laboratorium, for kommentarer

Et lite utvalg referanser

Bjerner J, Theodorsson E, Hovig E and Kallner A. Non-parametric estimation of reference intervals in small Non-Gaussian sample sets. Accreditation and Quality Assurance. In press.

Canty AJ. An S-Plus Library for Resampling Methods. Computing Science and Statistics [Proceedings of the 30th Symposium on the Interface] 1998;236-241.

Henderson AR. The bootstrap: a technique for data-driven statistics. Using computerintensive analyses to explore experimental data. Clin Chim Acta 2005;359:1-26.

Hesterberg T, Monaghan S, Moore DS, Clipston A and Epstein R: Bootstrap Methods and Permutation Tests. The Practice of Business Statistics, WH Freeman and Company 2003.

Linnet K. Nonparametric estimation of reference intervals by simple and bootstrapbased procedures. Clin Chem 2000;46:867-9.

cobas®

Life needs answers

The cobas® way

Reagent preparation: One unique way to handle more

Roche

Diagnostics

than 170 applications

cobas®

Life needs answers

Resestipendium från Klinisk Biokemi i Norden
Vagabondera mera!

Såväl Harry Martinson som Bruce Chatwin lyfter fram vagabondnaturen som en av mänsklighetens grundläggande drag. Att resa, förflytta sig och vara på rörlig fot är en instinkt som vi lärde in under de många år vi jagade på Afrikas savanner.

Vi är fortfarande jägare och samlare, men vi kliniska biokemister är numera ute efter kunskap och färdigheter. Och nya idéer!

Det vill Klinisk Biokemi i Norden stimulera.Vi utlyser därför åter resestipendium på 50.000 DKK som skall användas under 2009-2010.

Målet är att stärka den klinisk kemiska utvecklingen i Norden. Resan kan gå till ett annat land i Norden eller globalt i världen. Kravet är att sökande jobbar på lab i något av de nordiska länderna.

Stipendiet kan tilldelas en eller flera sökanden och skall användas till resa och uppehålle vid utländskt laboratorium för att:

- Lära nya tekniker
- Fortsätta forskningsprojekt vid nytt laboratorium där det finns specialkompetens
- Skapa kontakter med Centers of excellence i utlandet

Ansökningen skall innehålla:

- En kort beskrivning av målet med resan och uppehållet
- En bekräftelse från värdlaboratoriet att sökanden är välkommen som gästforskare
- en budget för uppehållet

Det förväntas att stipendiaten skall skriva en artikel i Klinisk Biokemi i Norden om vad som uppnåddes under resan.

2008 utdelades stipendier till Eva Norström, Malmö, för att i Barcelona utveckla metoder för flödescytometri av trombocyter och till Leifur Franzson, Reykjavik, för att i Vejle utveckla metoder inom masspektrometri.

Resan kan företas med ett av stipendiaten själv valt fortskaffningsmedel men med tanke på det svåra rekryteringsläget inom vår specialitet vill Redaktionen uppmana resenären att vid polarfärder vara väl påpälsad!

Ansökan skall skickas senast 1 juni 2009 till:
Per Simonsson
Klinisk kemi
Labmedicin Skåne
Universitetssjukhuset MAS
SE-205 02 Malmö, Sverige
e-post: per.simonsson@med.lu.se

Ludvig Mylius-Erichsen, dansk polarforskare, död på Grönland 1907. Bild: Birgitta Alemo.

Kristoffer Hellsings pris 2008 till Johan Bjerner

Per Simonsson

Pristagaren Johan Bjerner samlar inspiration

Priset till Kristoffer Hellsings ära, för bästa artikel 2008 i KBN, går till Johan Bjerner, Oslo för hans artikel ”Referensintervaller – en praktisk veiledning”. Den är författad tillsammans med Elvar Theodorsson, Ragnhild Wergeland och Lars Mørkrid. Artikeln återfinns i nummer två. Har ditt exemplar av tidskriften förkommit så kan den sökas på KBNs hemsida www.kkno.org där gamla nummer ligger i pdf-format.

I samband med norska sällskapets årsmöte överlämnade Tor-Arne Hagve ett grafiskt verk av den danska konstnären Birgitte Thorlacius till pristagaren.

Johan har ett förflutet på medicinsk biokemi, Rikshospitalet, Oslo. Han disputerade på en avhandling om interferens i immunoassays, med särskild inriktning på tumörmarkörer, och olika metoder för att eliminera den typen av interferens. Johan arbetar nu på Fürst Medisinsk Laboratorium i Oslo. Bland övriga meriter kan räknas redaktionssekreterare i SJCLI.

Hans språkliga bakgrund är intressant, och inte ovanlig för goda författare. Liksom Joseph Conrad, född Józef Teodor Konrad Korzeniowski, skriver vår pristagare inte på modersmålet svenska, utan på andraspråket norska. Han är således språkmässigt lik Aksel Sandemose: född dansk, men en av Norges mest fängslande författare.

Kanske bidrar språkrikedomen till att jämtlänningen Johans penna så rappt summera ett av klinisk kemis viktiga områden på ett livfullt och fräscht sätt. Det är inte lätt att skriva medryckande om statistik, men det gör den kunnige pristagaren. Extra glädjande är att han fortsatt med sitt författarskap i KBN. Vi ser fram emot mer.

Redaktionen vill gratulera Johan, som numera också avancerat till ordförande i Norsk selskap for medisinsk biokjemi!

Vem var Kristoffer Hellsing?

Kristoffer var en utåtriktad och publicistisk svensk klinisk kemist, med bas i Uppsala och med proteinkemi som sitt fält. Dock minns vi honom mest för hans kontaktskapande arbete, bl a genom att starta KBN för precis 20 år sedan och även den svenska föreningens tidskrift. Kristoffer, eller Krister, som många kallade honom, grundade också den svenska externa kvalitetsorganisationen Equalis. Också här värnade han om det utåtriktade. De folkliga och fullsatta användarmöten som han skapade, som intellektuell bas för kollegialt utvecklande, lever vidare i god hälsa.

Fallbeskrivning:
Nyfödd gosse med kraftigt svängande tyreoideavärden

Anders Isaksson, Klinisk kemi, Labmedicin Skåne, Universitetssjukhuset i Lund och Equalis endokrinologigrupp (Charlotte Becker, Malmö; Per Bjellerup, Västerås; Göran Brattsand, Umeå; Martin Carlsson, Kalmar; Kerstin Larsson, Falun; Mats Stridsberg, Uppsala, Gunnar Nordin, Uppsala och Håkan Lund, Uppsala)
Anders.Isaksson@med.lu.se

Sjukhistoria

Pojken föddes via akut sectio efter vecka 35. Vid födelsen hade barnet viss asfyxi, lågt blodsocker och laktatökning, vilket föranledde behandling med glukosdropp. Utredning för misstänkt metabol sjukdom inleddes med provtagning för bl.a. aminosyror i plasma och organiska syror i urin.

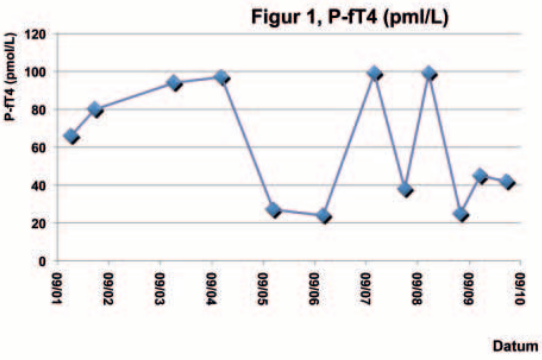
Vid tre dagars ålder noterades tachycardi och högt blodtryck. Blodprover visade bild som vid neonatal tyreotoxikos med högt fritt T4 och supprimerat TSH. Behandling med tyreostatika och betablockad startades. Eftersom man inte såg någon påtaglig effekt av behandlingen kompletterades denna efterhand med Prednisolon och Lugols lösning. Vid 1 veckas ålder fick pojken kramper och MRT av hjärna visade uttalade vitsubstansförändringar.

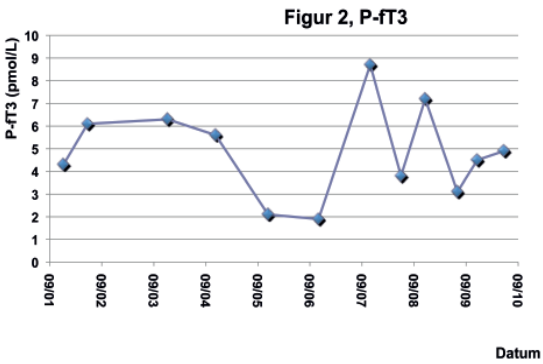
På grund av laboratoriemässigt utebliven behandlingseffekt och kraftigt svängande värden under dygnet för tyreoideahormoner (Figur 1-3) blir laboratoriet kontaktat.

Utredning

Då pojken är ca 14 dagar gammal tas prov för distribution via Equalis (External Quality Assurance in Laboratory Medicine in Sweden) för bestämning av tyreoideahormoner och TSH med andra metoder än de som förekommer på hemmalaboratoriet, vilket använder metoder från Roche (Roche Cobas e 601). Eftersom det rör sig om ett litet barn kan endast en liten blodmängd tas och prov kan därför bara skickas ut till ett begränsat antal laboratorier utvalda så att provet blir undersökt med så många olika metoder som möjligt. Sammanställningen från denna undersökning (Tabell 1) visar att varierande resultat erhålls med olika metoder och att patienten sannolikt har utvecklat en behandlingsinducerad hypotyreos.

Tabell 1	TSH mIU/L	T4, fritt pmol/L	T3, fritt pmol/L	T4, total nmol/L	T3, total nmol/L
Siemens Immulite 2500	50	13	2,5		
Beckman Unicell DxI 800	51	> 77	14,5	109	13
Wallac Delfia	44	12,5	4,5		
Abbott Architect	38	13,4	3,4		
Siemens Advia Centaur	50	15	3,6		
Roche e 601	1,2	16	-		





Orsak

Så kraftigt och snabbt svängande värden för tyreoideahormoner som i detta fall synes fysiologiskt orimliga med tanke på hormonernas normala halveringstider i cirkulationen, ca 1 vecka för T4 och ca 1 dygn för T3. De varierande resultaten som erhölls med olika mätmetoder talar för att några av dessa är påverkade av analytisk interferens och där graden av denna fluktuerar under dygnet. Det bör därför finnas någon substans i patientens blod som varierar kraftigt i koncentration under dygnet och som påverkar resultaten i mätningarna med någon eller några av de använda metoderna. Teoretiskt kan en sådan substans vara endogen eller exogen, men det förefaller osannolikt att en endogen substans skulle visa extrem dygnsvariation.

Återstår då exogen substans, t.ex. läkemedel. Enligt uppgift får dock inte patienten någon läkemedelsbehandling utöver den som ges för hans tyreotoxikos. Emellertid visar det sig att patienten behandlas med s.k. ”scavengers”, vilket är gängse initial behandlig vid misstanke på metabol sjukdom innan diagnos är fastställd. ”Scavengers” består av en blandning av co-faktorer som vitamin B12, vitamin B6, biotin och karnitin. Denna behandling ges intravenöst 2 gånger per dygn och med mycket höga doser av co-faktorer, t.ex. biotin 10 mg vid varje tillfälle. Om man förutsätter att biotin efter injektion fördelar sig i extracellulärrummet erhålles en biotinkoncentration i detta vätskerum på ca 15 mg/L hos den aktuella patienten med kroppsvikten ca 3 kg. Initialt är koncentrationerna i plasmarummet sannolikt ännu högre.

Mätmetoderna för TSH, fritt T4 och fritt T3 från Roche utnyttjar den starka interaktionen som finns mellan biotin och streptavidin. I TSH-metoden är en av antikropparna biotinkonjugerad och i metoderna

(Fortsætter side 34)

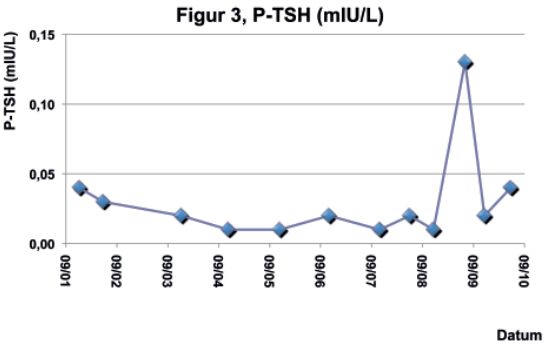


Foto: Henrik Alfthan

(Fortsat fra side 33)

för fritt T4 och fritt T3 är respektive antigen biotinkonjugerat. Liknande gäller för Beckmans metoder för T3 (totalt och fritt) samt T4 (fritt). Samtliga dessa metoder från Roche och Beckman visade också avvikande mätresultat jämfört med dem som erhölls med övriga leverantörers metoder, vilka inte utnyttjar interaktionen mellan biotin och streptavidin.

Interferensen från biotin medför falskt för höga resultat i kompetitiva metoder (T4 och T3) och falskt för låga i icke-kompetitiva metoder (TSH).

Konklusion

Analytisk interferens är en inte helt ovanlig anledning till avvikande eller svårtolkade resultat från kliniskt kemiska mätningar och i synnerhet från antikroppsbaserade sådana. Andra felkällor utöver analytisk interferens som kan behöva beaktas vid immunkemiska mätningar är korsreaktivitet, heterogenitet av analyten och antigen-excess.

Analytisk interferens i denna kategori av metoder orsakas i regel av antikroppar i patientens blod som reagerar med någon komponent i reaktionssystemet. Det kan vara så kallade heterofila antikroppar, HAAA (Human Anti-Animal Antibodies) med specialfallet HAMA (Human Anti-Mouse Antibodies) och antiligandantikroppar.

I detta fall var interferensen emellertid av allt att döma orsakad av biotin. Roche anger i sina produktblad att höga biotinkoncentrationer ger upphov till interferens i deras immunkemiska mätmetoder, vilka samtliga utnyttjar biotin-streptavidin-konceptet. Mätinterferens ses emellertid inte förrän vid de höga biotinkoncentrationer, som endast kan erhållas efter tillförsel av beredningar innehållande mycket höga biotinhalter. Rimligen kan därför endast patienter hörande till den kategori som beskrivits här vara i riskzonen.

För att undvika risken för felaktiga mätvärden och därav följande felaktig behandling bör därför laboratorier som använder metoder baserade på biotin-streptavidin(avidin)-konceptet informera sina barnläkare och neonatalavdelningar om denna potentiella felkälla. Om denna är känd kan provet ofta tas före insatt behandling eller i övriga fall skickas till annat laboratorium, som använder metoder där biotin inte interfererar.

Epilog

Behandlingen sattes ut. Barnet kunde skrivas ut från vårdavdelningen efter några dagar, med poliklinisk kontroll av tyreoideaprover. Utredning har inte gett hållpunkter för metabol sjukdom. Ärendet redovisades för chefsläkaren och intern information om interferensen har spridits på barnkliniken. Händelsen har inte fått rättsligt efterspel.

Foto: Henrik Alfthan

ÖPPNA ÖGONEN FÖR EN NY VÄRLD AV MÖJLIGHETER!

SafirLIS Deltrix - ett ÄKTA multidisciplinärt LIS

- Ett komplett stöd från provtagning till provsvar - stöd för hela laboratorieprocessen
- Förenklad och förbättrad driftsituation - ett system istället för flera
- Nya medicinska möjligheter - patientdata tillgängligt över disciplingränserna i ett och samma system
- Förenklad integration mot omgivande vårdsystem - gränssnitt mot endast ett laboratoriedatasystem
- Förbättrad kvalitet, säkerhet och spårbarhet - data på ett ställe i ett och samma system

SafirLIS Deltrix är nästa generations laboratoriedatasystem med stöd för klinisk kemi, mikrobiologi och patologi/cytologi.

- STRAIGHT TO QUALITY CARE

profdoc®

Profdoc Lab AB
Cirkelgatan 14
SE-781 72 Borlänge
T: +46 243 21 76 00
F: +46 243 21 76 01
E: info.lab@profdoc.com

Profdoc Norge AS
Postboks 163
NO-1325 Lysaker
T: +47 815 69 069
F: +47 219 36 301
E. firmapost@profdoc.no

Profdoc Danmark A/S
Messingvej 35
DK-8940 Randers SV
T: +45 8861 2000
F: +45 6980 4600

www.profdoc.se

Tre immunologiska metoder för bestämning av tumörmarkören CA 19-9 i jämförelse

Kristina Hotakainen[a,c], Pirjo Tanner[a], Henrik Alfthan[a], Caj Haglund[b] och Ulf-Håkan Stenman[a,c]*

[a]Avdelningen för Klinisk Kemi och [b]Kirurgi; Helsingfors Universitetscentralsjukhus och [c]Helsingfors Universitet, Helsingfors

kristina.hotakainen@hus.fi

Sammandrag

Kolhydratantigenen (eng. **C**arbohydrate **A**ntigen) CA 19-9 är en värdefull tumörmarkör i gastrointestinal (GI) cancer, men nivåerna i olika metoder varierar och ett metodbyte under patientuppföljningen kan därför leda till problem.

Vi bestämde CA 19-9-koncentrationerna i 610 serumprover från patienter med GI-sjukdomar med immunoanalysatorerna Architect i2000 (CA 19-9XR metoden, Abbott), Elecsys 2010 (Roche) och Immuno 1 (Bayer/Siemens) för att studera korrelationen mellan metoderna. Metodernas kliniska träffsäkerhet jämfördes i prover från 68 patienter med benigna GI-sjukdomar och 106 cancerpatienter. Vidare bestämdes övre referensgränsen för Abbott- och Roche-metoderna (n= 315).

Architect-metoden gav signifikant lägre koncentrationer än de andra två metoderna för kontroller och i benigna sjukdomstillstånd (p <0.0001), och den övre referensgränsen var lägre (26 kU/L) än för Elecsys (36 kU/L). För diskriminering mellan benigna sjukdomar och pankreascancer var ytan under kurvan (eng. area under the curve, AUC) signifikant större med Architect (0.90; 95% CI 0.83-0.98) än med Elecsys (0.78) och Immuno 1 (0.76). Ett gränsvärde på 37 kU/L gav för alla metoder en optimal separation mellan benigna och maligna sjukdomar.

Tabell 1

Distributionen av CA 19-9 koncentrationer (kU/L) bestämd med Architect CA 19-9XR- och Elecsys metoderna i 315 till synes friska personer

	Architect	Elecsys
Medeltal	6.2	11.0
Median	3.7	8.8
Range	2-76.4	0.6-70.4
Percentiler		
95	17.5	29.5
97.5	25.9	36.4
99	51.0	53.8

Inledning

CA 19-9 tumörmarkörtestet baserar sig på an antikropp (1116-NS-19-9) [1], vilken riktar sig mot en repetitiv epitop på högmolekylära muciner, vilken produceras av flera cancerformer [2]. CA 19-9 fungerar bäst som serummarkör för cancer i pankreas och gallan, men förhöjda koncentrationer förekommer i flera andra GI-maligniteter sådana som mag-, kolorektal- och levercancer, men också i bröst-, lung- [3] och gynekologisk cancer [4-7]. Förhöjda koncentrationer kan också förekomma in benigna sjukdomar [8-12]. CA 19-9 koncentrationerna i serum är förhöjda hos 70-90% av patienter med pankreascancer, koncentrationerna reflekterar tumörvolymen och höga nivåer förutspår dålig utgång [13-18]. Postterapeutisk monitorering av markörkoncentrationen återspeglar behandlingsrespons och eventuella sjukdomsåterfall [19-21].

Den första kliniska studien på CA 19-9 utfördes med en radioimmunometrisk metod, och i denna studie etablerades en övre referensgräns på 37 kU/L [22]. I dagsläge används huvudsakligen automatiska immunmetoder, men de flesta metodtillverkare

rekommenderar fortfarande samma cut-off, trots att kalibreringen av olika metoder varierar. Därför kompliceras monitoreringen av CA 19-9 koncentrationer av flertalet av olika metoder, och ett metodbyte orsakar ofta förändringar i markörkoncentrationen som inte beror på själva sjukdomen [23].

Då Immuno 1 metoden lades ned bestämde vi referensvärden för CA 19-9 med två alternativa metoder, Architect i2000 (CA 19-9XR, Abbott) och Elecsys 2010 (Roche). För jämförelse av de tre metodernas kliniska validitet bestämde vi också CA 19-9 koncentrationer med var och en av metoderna i olika kliniska tillstånd.

Material och metoder

Patienter och prover

Korrelationen mellan metoderna bestämdes i 610 efter varandra tagna serumprover, vilka klinikerna beställt CA 19-9 testet på under en tre månaders period vid Helsingfors Universitetscentralsjukhus. Patienterna blev undersökta eller var under uppföljning för varierande GI-sjukdomar. Kliniska data och laboratorieundersökningar, inklusive koncentrationer av alkaliskt fosfatas (AFOS), alaninaminoteransferas (ALAT), aspartataminoteransferas (ASAT) och bilirubin kontrollerades ur patientjournaler. Av 185 patienter med cancer medtogs 106 med aktiv sjukdom i studien på klinisk validitet. Av dessa hade 30 patienter pankreascancer, 43 kolorektal cancer och 33 patienter andra cancertyper (cancer i lever, tyroidea, ovarium och bröst, ett melanom, ett lymfom och en neuroendokrin tumör). De 68 benigna fallen innefattade varierande sjukdomstillstånd där CA 19-9-testet beställts för att utreda dold malignitet, men där endast benigna sjukdomar avslöjades; biliär- och alkoholchirros, skleroserande cholangit, gallstenar, reumatiska- och luftvägssjukdomar samt diverse andra inflammationer och infektioner.

För bestämning av referensvärden togs blodprover på 290 till synes friska män och 222 kvinnor (i åldern 18-70 år) i Venoject EDTA-rör (Terumo). Plasma separerades omedelbart och förvarades i -20 °C i upp till en månad innan bestämning.

Metoder

CA 19-9 bestämdes enligt instrumenttillverkarnas instruktioner med analysatorerna Architect i2000 (CA 19-9XR, Abbott), Elecsys 2010 (Roche) och Immuno 1 (Bayer/Siemens), med respektive funktionella detektionsgränser på 2 kU/L, 3 kU/L och 5 kU/L. Proverna analyserades inom 6 timmar från provtagningen med Architect och Immuno 1, och efter en frysning och ett tinande med Elecsys. Reagenser för Immuno 1 fanns inte mera tillgängliga då referensvärdena bestämdes. Tillverkarnas rekommenderade övre referensgränser är 37 kU/ l för Architect och Immuno 1, medan 34 kU/L ges för Elecsys.

Provets, provrörets och provförvaringens betydelse

Betydelsen av provtyp, provrör samt frysning och tinande utreddes genom att jämföra CA 19-9 kon-

(Fortsætter side 38)

Tabell 2

Ålders- och könsspecifik fördelning av CA 19-9 koncentrationer (kU/L) hos friska personer bestämd med Architect CA 19-9XR.

	Kvinnor			Män			Alla
Ålder (år)	18-50	51-70	Alla kvinnor	18-50	51-70	Alla män	18-70
n	102	120	222	98	192	190	512
Medeltal	7.9	6.6	7.2	4.4	6.7	5.9	6.5
Median	5.1[a]	3.4	3.8	3.0[b]	4.3	3.6	3.7
Range	2-76.4	2-35	2-76.4	2-24	2-39	2-39	2-76.4
97.5 percentil	61.2	27.5	31.8	21.4	24.1	23	25.8

[a]Mann-Whitney p = 0.002 mot män i åldern 18-50 år och [b]p <0.0001 mot män i åldern 51-70 år. Skillnaden mellan alla män och kvinnor och kvinnor i olika åldersgruppens var inte signifikant.

Tabell 3
Diagnostisk konkordans mellan Architect (Arc), Immuno 1 (Imm) och Elecsys (Ele) med varierande övre referensgränser i benigna sjukdomar, pankreascancer och kolorektal cancer.

Konkordans	N	%
Benigna GI-sjukdomar		
Arc 37 kU/L vs. Imm 37 kU/L	35/68	51
Arc 37 kU/L vs. Ele 34 kU/L	39/68	57
Imm 37 kU/L vs. Ele 34 kU/L	56/68	82
Arc 26 kU/L[a] vs. Imm 22 kU/L[b]	38/68	56
Arc 26 kU/L[a] vs. Ele 36 kU/L[a]	47/68	69
Imm 22 kU/L[b] vs. Ele 36 kU/L[a]	55/68	81
Pankreascancer		
Arc 37 kU/L vs. Imm 37 kU/L	27/30	90
Arc 37 kU/L vs. Ele 34 kU/L	25/30	83
Imm 37 kU/L vs. Ele 34 kU/L	28/30	93
Arc 26 kU/L[a] vs. Imm 22 kU/L[b]	36/30	87
Arc 26 kU/L[a] vs. Ele 36 kU/L[a]	26/30	87
Imm 22 kU/L[b] vs. Ele 36 kU/L[a]	27/30	90
Kolorektal cancer		
Arc 37 kU/L vs. Imm 37 kU/L	30/43	70
Arc 37 kU/L vs. Ele 34 kU/L	30/43	70
Imm 37 kU/L vs. Ele 34 kU/L	34/43	79
Arc 26 kU/L[a] vs. Imm 22 kU/L[b]	31/43	72
Arc 26 kU/L[a] vs. Ele 36 kU/L[a]	31/43	72
Imm 22 kU/L[b] vs. Ele 36 kU/L[a]	37/43	86

Övre referensgränsen rekommenderad av tillverkarna för Architect och Immuno 1 är 37 kU/L, och 34 kU/L för Elecsys. [a]Den övre referensgränsen (97.5 percentil) bestämd i denna studie, och [b]97.5 percentilen given av tillverkaren av Immuno 1.

(Fortsat fra side 37)

centrationer bestämda med Architect i plasmaprover (Venoject EDTA-rör, n = 20), i serumrör (Becton Dickinson VT-100SPZ; n = 30) och i serum gel-separator rör (Becton Dickinson Vacutainer SSTTM II Advance; n = 30). Serumproverna analyserades inom 6 timmar, efter tre dagars förvaring vid +4 °C (n = 30, intervall 5-715 kU/L), och efter tre veckor, tre månader (n = 22, range 7-928 kU/L) och ett år (n = 21, range 5-3393 kU/L) vid -20 °C.

Statistiska analyser

Den övre referensgränsen beräknades på basis av 97.5 percentilen för friska kontroller. Korrelationen mellan metoderna analyserades med Passing-Bablok regression [24]. Metodernas sensitivitet och specifitet jämfördes med ROC-analys (eng. receiver operating characteristics) med patienter med benigna GI-sjukdomar som kontrollgrupp. Ett AUC-värde på 0.5 innebär ett diagnostiskt värdelöst test medan ett värde på 1.0 anger fullständig diskrimination mellan sjuka och friska. CA 19-9 koncentrationer innan och efter förvaring jämfördes med Wilcoxon signed ranks test, och korrelationen mellan CA 19-9 koncentrationer och AFOS, ALAT, ASAT och bilirubin analyserades med Kendall's tau_b test. Alla kalkyler gjordes med SPSS statistiska mjukvara.

Resultat

Provets, provrörets och förvaringens betydelse

Resultaten för serumprover tagna i serumrör eller gel-separator rör eller plasma var lika. Förvaring vid +4 °C i tre dygn, eller vid -20 °C i tre veckor och tre månader påverkade inte signifikant resultaten för serumprover (-3.4% efter 72 timmar; + 9.3% efter tre veckor, och +2.1% efter tre månader). Efter ett års förvaring vid -20 °C sjönk koncentrationen i medeltal med 20.6% (p <0.0001; Wilcoxon signed ranks test).

Referensvärden

Den övre referensgränsen hos 315 till synes friska personer grundad på 97.5 percentilen var 25.9 kU/L med Architect och 36.4 kU/L med Elecsys (Tabell 2). Koncentrationerna hos kvinnor tenderade att vara högre än hos män, men skillnaden var inte signifikant.

För att utreda betydelsen av ålder och kön analyserades ytterligare 197 prover med Architect-metoden.

Tabell 4
Fördelningen av CA 19-9 värden i benigna GI-sjukdomar och olika cancerformer med Architect CA 19-9XR (Arc), Immuno 1 (Imm) och Elecsys (Ele) metoderna. AUC värden anger differentiering mellan maligna och benigna GI-sjukdomar.

Diagnos	N	Metod	Median (kU/L)	Range (kU/L)	AUC[a]	95% CI[b]	P	Sensitivitet vid 95% specifitet
Benigna GI-sjukdomar	68	Arc	16	2 - 210				
		Imm	59	5 - 506				
		Ele	44	3 - 1000				
Pankreascancer	30	Arc	194	5 - 306000	0.90[c]	0.83 - 0.98	<0.0001	60
		Imm	236	19 - 60500	0.76	0.65 - 0.87	<0.0001	43
		Ele	134	6 - 12700	0.78	0.68 - 0.89	<0.0001	47
Kolorektal cancer	43	Arc	49	2 - 6060	0.71[d]	0.61 - 0.82	<0.0001	35
		Imm	57	5 - 2350	0.54	0.43 - 0.65	0.47	9
		Ele	52	3 - 2480	0.56	0.45 - 0.68	0.26	23
Övriga cancer	33	Arc	26	2 - 1170	0.67	0.56 - 0.79	0.005	27
		Imm	83	5 - 7500	0.63	0.51 - 0.74	0.04	15
		Ele	67	5 - 2690	0.65	0.53 - 0.76	0.02	21

[a]AUC för differentiering mellan cancer och benigna GI-sjukdomar
[b]CI, konfidensintervall för AUC
[c]p = 0.0002 mot Immuno 1 och p = 0.0012 mot Elecsys
[d]p = 0.002 mot Immuno 1

Tilläggsgruppen påverkade inte den ålder- och könspecifika distributionen, eller referensvärdena för Architect (Tabell 3). Hos män tenderade CA 19-9 koncentrationen att öka med åldern, medan den sjönk hos kvinnor: koncentrationerna hos kvinnor yngre än 50 år var signifikant högre än hos män i samma åldersgrupp (p = 0.002) (Tabell 3).

Korrelationen och konkordansen mellan metoderna

Korrelationen mellan metoderna var nöjaktig, men vid låga och moderat förhöjda koncentrationer, typiska för kontroller och patienter med benigna sjukdomar, var korrelationen svag (Fig.1). Med tillverkarnas gränsvärden var den diagnostiska konkordansen mellan Architect och de två andra metoderna svag (51-57%) hos benigna kontroller, men bättre (83-90%) i pankreascancer. I kolorektal cancer låg konkordansen mellan 70 och 86%. Med olika gränsvärden i området 22-37 kU/L var konkordansen i alla sjukdomstillstånd liknande, och bättre mellan Immuno 1 och Elecsys än mellan dessa och Architect (Tabell 4).

Klinisk validitet

Med Architect-metoden var AUC-värdet för differentiering mellan pankreascancer och benigna GI-sjukdomar (AUC = 0.90; 95% CI 0.83-0.98) signifikant högre än för Immuno-1 (AUC = 0.76, 95% CI 0.65-0.87, p <0.0002) och Elecsys (AUC = 0.78; 95% CI 0.68-0.89, p = 0.0012). I kolorektal cancer var AUC-värdena lägre, men AUC för Architect (0.71) var signifikant större än för Immuno 1 och Elecsys (0.54 och 0.56). Architect-metoden skilde signifikant mellan benigna sjukdomar och kolorektalcancer (p <0.0001), medan de andra metoderna inte gjorde det. AUC värdena var också högre för Architect (AUC

(Fortsætter side 40)

(Fortsat fra side 39)

= 0.67) än för Immuno-1 (0.63) och Elecsys (0.65) i övriga cancertyper (Fig. 2 och Tabell 5).

På basen av ROC-analys ger ett gränsvärde på 37 kU/L för Architect den bästa kombinationen av sensitivitet (87%) och specificitet (80%) vid pankreascancer. Med samma cut-off för Immuno 1 var motsvarande värden 83% och 37%, samt 90% och 43% för Elecsys. Då referensgränsen 26 kU/L för Architect användes som gränsvärde ökade sensitiviteten till 90%, men specifiteten sjönk till 65%.

För att utreda hur leversjukdomar påverkar CA 19-9 resultaten för de olika metoderna studerade vi korrelationen med leverfunktionens markörer. I benigna sjukdomar korrelerade CA 19-9 koncentrationen bestämd med Immuno 1 (n = 58-73) signifikant med AFOS ($p = 0.008$, $r = 0.21$), bilirubin ($p < 0.0001$, $r = 0.32$), ASAT ($p = 0.002$, $r = 0.29$) och ALAT ($p < 0.0001$; $r = 0.31$). För Elecsys korrelerade resultaten med ALAT ($n = 43$, $p = 0.039$, $r = 0.22$), medan korrelationerna inte var signifikanta för Architect ($p > 0.05$, $r < 0.1$).

Diskussion

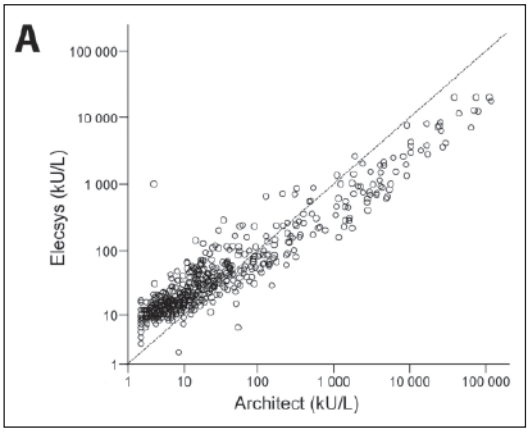
Vår studie visar att de olika CA 19-9-metoderna ger rätt varierande resultat särskilt vid låga och moderat förhöjda koncentrationer. Architect CA 19-9XR-metoden gav klart lägre resultat än de andra metoderna hos friska kontroller och patienter med benigna tillstånd (Tabell 5), medan koncentrationerna hos cancerpatienter var liknande med alla studerade metoder. Därav följer att den övre referensgränsen för Architect baserad på 97.5 percentilen var lägre, 26 kU/L, än den traditionella cut-off gränsen på 37 kU/L, medan motsvarande gräns för Elecsys var 36.4 kU/L. För Immuno 1 kunde den övre referensgränsen inte bestämmas; tillverkaren anger en övre referensgräns på 22 kU/L men rekommenderar en cut-off på 37 kU/L. Av korrelationen mellan metoderna (Fig. 1) att döma verkar kalibreringen av Immuno 1 vara närmare Elecsys än Architect-metoden. Vår övre referensgräns för Architect-metoden är praktiskt taget identisk med den La'Ulu & Roberts tidigare bestämt [25], 26.4 kU/L. Motsvarande gräns för Elecsys i vår studie (36.4 kU/L) var nära tillverkarens rekommenderade cut-off (34 kU/L). Vestergaard o.a. bestämde CA 19-9 koncentrationerna hos 497 friska blodgivare med Immulite Automated Analyzer (Diagnostisk Products), och rapporterade en median CA 19-9 koncentration på 4.1 kU/L och en 97.5 percentil på 28.7 kU/L [26]. Intressant nog, bestämde DelVillano o.a. [22] CA 19-9-värdena hos 1020 friska blodgivare med den ursprungliga radioimmunometriska metoden, och fann koncentrationer högre än 37 kU/L hos bara 0.6% av dessa. De fann också nästan dubbelt så höga koncentrationer hos kvinnor under 30 år som hos med män i samma ålder. Detta stämmer överens med våra resultat; mediankoncentrationen av CA 19-9 hos friska kvinnor mellan 18 och 30 år var 4.9 kU/L vs. 2.2 kU/L hos män ($p = 0.003$). Däremot fann vi ingen signifikant skillnad mellan könen överlag. Detta berättigar användandet av gemensamma referensgränser för män och kvinnor.

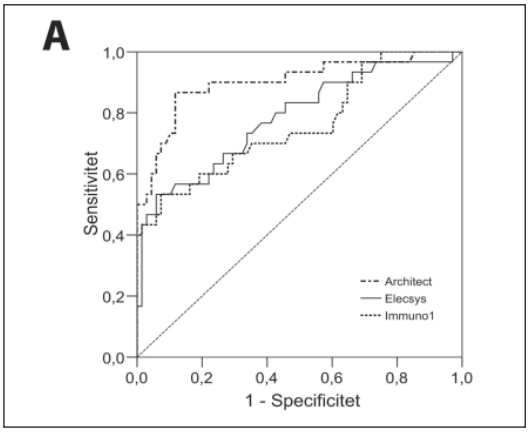
I ROC analys gav Architect-metoden högre AUC värden än de andra metoderna, och skillnaden var statistiskt signifikant för pankreas- och koloncancer. Den bästa diskriminationen mellan maligna och benigna GI-sjukdomar fås med en cut-off på 37 kU/L. Samma beslutsgräns kunde också tillämpas för de två andra metoderna. AUC-värdena för diskriminering mellan pankreascancer och friska kontroller var mycket höga för både Architect och Elecsys (0.98 och 0.97, data visas inte), och för detta ändamål motsvarade den optimala cut-off-gränsen den övre referensgränsen, 26 kU/L, för Architect och 37 kU/L för Elecsys. Eftersom vi studerade ett cross-sectional material av patienter under utredningar och uppföljning för GI-sjukdomar och inte en screening-population, reflekterar AUC-värdena metodernas användbarhet för dessa ändamål, men inte för detektion av cancer i screeningförhållanden.

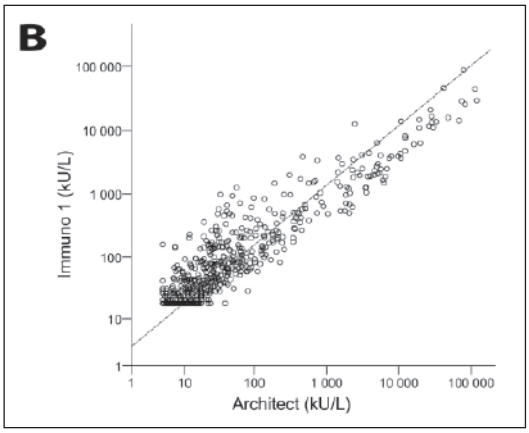
Olika benigna GI-sjukdomar med obstruktiv ikterus [11] och försämrad leverfunktion tenderar att leda till "falskt förhöjda" tumörmarkörkoncentrationer. Förhöjda CA 19-9-koncentrationer påträffades oftare i benigna lever- och gallvägssjukdomar (med eller utan ikterus) med Elecsys och Immuno 1 än med Architect-metoden. Med Architect korrelerade resultaten inte signifikant med leverfunktionens tester, vilket de gjorde med de andra två metoderna. Förhöjda CA 19-9 koncentrationer har också rapporterats i benigna luftvägssjukdomar [9, 12, 27], och vi fann höga koncentrationer (upp till 210 kU/L) med alla metoder hos patienter med svår kronisk obstruktiv lungsjukdom (n = 3) och tre patienter med lunginflammation och organsvikt.

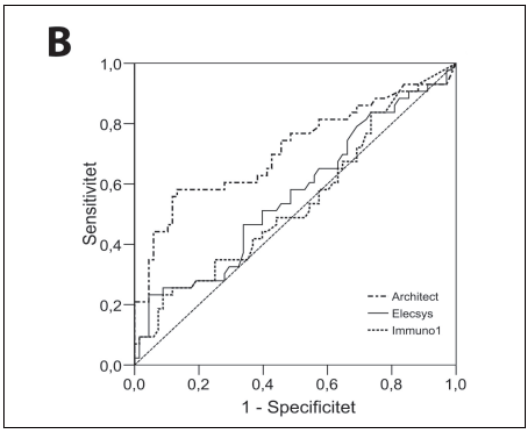
Eftersom alla de studerade metoderna tillämpar samma 1116-NS-19-9 antikropp, uppstår skill-

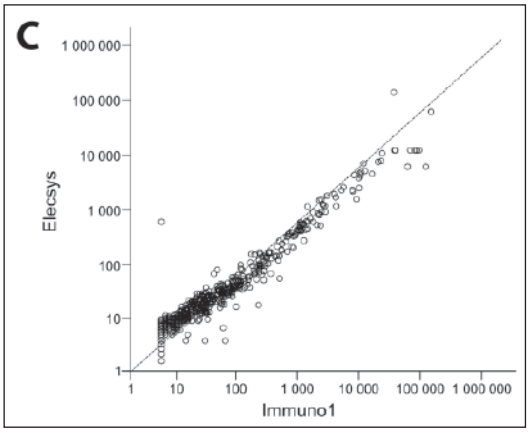
(Fortsætter side 42)











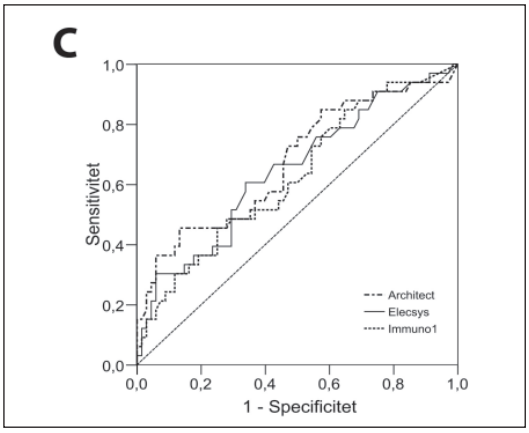


Fig. 1. Korrelationen mellan Architect och Elecsys (A), Architect och Immuno 1 (B) samt Immuno 1 och Elecsys (C) hos patienter under utredning eller uppföljning för GI-sjukdomar (n = 610). (A) Elecsys = 0.83 Architect + 7.0 kU/L ; (B) Immuno 1 = 0.77 Architect + 3.5 kU/L ; (C) Elecsys = 0.76 Immuno 1 + 6.2 kU/L.

Fig. 2. ROC-analys av CA 19-9 metoderna för differentiering mellan benigna GI-sjukdomar och (A), pankreascancer (B), kolorektal cancer och (C), övriga cancerformer.

(Fortsat fra side 40)

naderna mellan metoderna uppenbarligen genom metoddesign och kalibrering. Däremot förklaras skillnader i klinisk specifitet knappast enbart av kalibreringen. I Architect CA 19-9XR-metoden tillämpas två-stegs inkubering, medan Elecsys och Immuno 1 metoderna är en-stegs-metoder. Dessutom skiljer sig metoderna beträffande märkesämnen och solida faserna. Muciner av varierande storlek bärande CA 19-9-epitopen förekommer i olika sjukdomar [28, 29] och det är möjligt att detektionen av de olika CA 19-9-formerna är metodberoende. Den sialylerade lakto-N-fucopentaos II-epitopen som 1116-NS-19-9 antikroppen definierar är besläktad med en Lewis-blodgruppsdeterminant, och Lewis-negativa personer (5-9% av den kaukasiska befolkningen) kan inte producera antigenet. Den övre referensgränsen för CA 19-9 varierar sexfaldigt (7.9-50.6 kU/L) enligt blodgruppsgenotyp [26]. Det är möjligt, att CA 19-9-negativa patienter med pankreascancer representerar Lewis-negativa fall. Lewis blodgruppen beaktas inte rutinmässigt i tolkningen av CA 19-9-koncentrationer på vårt sjukhus, och vi hade inte tillgång till denna information.

Som konklusion kan man konstatera att de studerade metodernas resultat för individuella patienter skiljer sig klart, och därför är det viktigt att fastställa en basnivå för koncentrationerna i samband med metodbyte under patientuppföljningen. Metodernas kapacitet att skilja mellan maligna och benigna sjukdomar var likaså olika men metoden på Architect framstår som den bästa. En övre referensgräns på 26 kU/L för Architect CA 19-9XR-metoden motsvarar 36 kU/L med Elecsys. Med en cut-off omkring 37 kU/L för alla tre metoder får man ändå den bästa validiteten för differentiering mellan benigna och maligna GI-sjukdomar.

Vi tackar

Denna studie understöddes av Stockmanns stiftelse, Finska Läkaresällskapet och Helsingfors Universitet. Vi tackar Abbott Laboratories, Diagnostisk Division, för reagenser.

Förkortningar

CA, carbohydrate antigen; GI, gastrointestinal; AUC, area under curve; ROC, receiver operating characteristics

Referenss

[1] Koprowski H, Steplewski Z, Mitchell K, Herlyn M, Herlyn D, Fuhrer P. Colorectal carcinoma antigens detected by hybridoma antibodies. Somatic Cell Genet 1979;5: 957–71.

[2] Magnani JL, Steplewski Z, Koprowski H, Ginsburg V. Identification of the gastrointestinal and pancreatic cancer-associated antigen detected by monoclonal antibody 19-9 in the sera of patients as a mucin. Cancer Res 1983;43:5489–92.

[3] Molina R, Santabarbara P, Filella X, Mengual P, Ballesta A, Balague A. Relationship of CA 125 and CA 19.9 with lung carcinoma histological subtype: preliminary study.. Int J Biol Markers 1989;4:215-20.

[4] Molina R, Ojeda B, Filella X, et al. A prospective study of tumormarkers CA 125 and CA 19.9 in patients with epithelial ovarian carcinomas. Tumour Biol 1992;13:278–86.

[5] Loy T, Sharp S, Ochershock C, Craig S. Distribution of CA 19-9 in adenocarcinomas and transitional cell carcinomas. An immunohistochemical study of 527 cases. Am J Clin Pathol 1996;99:726-8.

[6] Borras G, Molina R, Xercavins J, Ballesta A, Iglesias J. Tumor antigens CA 19.9, CA 125, and CEA in carcinoma of the uterine cervix. Gynecol Oncol 1995;57:205–11.

[7] Dietel M, Arps H, Klapdor R, Muller-Hagen S, Sieck M, Hoffmann L. Antigen detection by the monoclonal antibodies CA 19-9 and CA 125 in normal and tumor tissue and patients' sera. J Cancer Res Clin Oncol 1986;111:257–65.

[8] Aybek H, Aybek Z, Sinik Z, Demir S, Sancak B, Tuncay L. Elevation of serum and urinary carbohydrate antigen 19-9 in benign hydronephrosis. Int J Urol 2006;13: 1380–4.

[9] Marechal F, Berthiot G, Deltour G. Serum levels of CA-50, CA-19.9, CA-125, CA-15.3, enolase and carcino-embryonic antigen in non neoplastic diseases of the lung. Anticancer Res 1988;8:677–80.

[10] Tsavaris N, Mavragani CP, Pikazios D. Rheumatoid arthritis: correlation between rheumatoid factor levels and CA-125

tumour marker elevation. Ann Rheum Dis 2007;66:980.
[11] Duraker N, Hot S, Polat Y, Hobek A, Gencler N, Urhan N. CEA, CA 19-9, and CA 125 in the differential diagnosis of benign and malignant pancreatic diseases with or without jaundice. J Surg Oncol 2007;95:142–7.
[12] Kodama T, Satoh H, Ishikawa H, Ohtsuka M. Serum levels of CA19-9 in patients with nonmalignant respiratory diseases. J Clin Lab Anal 2007;21:103–6.
[13] Steinberg W. The clinical utility of the CA 19-9 tumor-associated antigen. Am J Gastroenterol 1990;85:350–5.
[14] Glenn J, SteinbergW, Kurtzman S, Steinberg S, SindelarW. Evaluation of the utility of a radioimmunoassay for serum CA 19-9 levels in patients before and after treatment of carcinoma of the pancreas. J Clin Oncol 1988;6:462–8.
[15] Lundin J, Roberts P, Kuusela P, Haglund C. The prognostic value of preoperative serum levels of CA 19-9 and CEA in patients with pancreatic cancer. Br J Cancer 1994;69:515–9.
[16] Boeck S, Stieber P, Holdenrieder S, Wilkowski R, Heinemann V. Prognostic and therapeutic significance of carbohydrate antigen 19-9 as tumor marker in patients with pancreatic cancer. Oncology 2006;70:255–64.
[17] Safi F, Schlosser W, Kolb G, Beger H. Diagnostic value of CA 19-9 in patients with pancreatic cancer and nonspecific gastrointestinal symptoms. J Gastrointest Surg 1997;1:106–12.
[18] Maisey N, Norman A, Hill A, Massey A, Oates J, Cunningham D. CA19-9 as a prognostic factor in inoperable pancreatic cancer: the implication for clinical trials. Br J Cancer 2005;93:740–3.
[19] Stemmler J, Stieber P, Szymala A, et al. Are serial CA 19-9 kinetics helpful in predicting survival in patients with advanced or metastatic pancreatic cancer treated with gemcitabine and cisplatin? Onkologie 2003;26:462–7.
[20] Micke O, Bruns F, Schafer U, Kurowski R, Horst E, Willich N. CA 19-9 in the therapy monitoring and follow-up of locally advanced cancer of the exocrine pancreas treated with radiochemotherapy. Anticancer Res 2003;23:835–40.
[21] Safi F, Schlosser W, Falkenreck S, Beger H. Prognostic value of CA 19-9 serum course in pancreatic cancer. Hepatogastroenterology 1998;45:253–9.
[22] Del Villano B, Brennan S, Brock P, et al. Radioimmunometric assay for a monoclonal antibody-defined tumor marker, CA 19-9. Clin Chem 1983;29:549–52.
[23] Passerini R, Riggio D, Salvatici M, Zorzino L, Radice D, Sandri M. Interchangeability of measurements of CA 19-9 in serum with four frequently used assays: an update. Clin Chem Lab Med 2007;45:100–4.
[24] Passing H, Bablok. A new biometrical procedure for testing the equality of measurementsfrom two different analytical methods. Application of linear regression procedures for method comparison studies in clinical chemistry, Part I. J Clin Chem Clin Biochem 1983;21:709–20.
[25] La'ulu S, RobertsW. Performance characteristics of five automated CA 19-9 assays. Am J Clin Pathol 2007;127:436–40.
[26] Vestergaard EM, Hein HO, Meyer H, et al. Reference values and biological variation for tumor marker CA 19-9 in serum for different Lewis and secretor genotypes and evaluation of secretor and Lewis genotyping in a Caucasian population. Clin Chem 1999;45:54–61.
[27] Fontana D, Della Beffa V, Fusca M, Loddo F. Extralobar pulmonary sequestration showing high CA 19-19 levels. Minerva Chir 2007;62:39–42.
[18] Wu J, Olson J, Walker K. Tumor markers CA 19-9 and CA 195 are also useful as markers for cystic fibrosis. J Clin Lab Anal 1992;6:151–61.
[29] Fujita J, Dobashi N, Ohtsuki Y, et al. Detection of large molecular weight cytokeratin 8 as carrier protein of CA19-9 in non-small-cell lung cancer cell lines. Br J Cancer 1999;81:769–73.

Nordisk kurs för yngre läkare 2009

The clinical biochemist in a landscape of integrated laboratory medicine.

Speciallægeuddannelse- kursus, erikoislääkärikoulutuskurssi, spesialistutdanningskurs, ST.-kurs.
T/S Helene, Ystad, Sweden
3. - 6. september 2009
Bess Margrete Fröyshov

Do you want to be a part of a Nordic society of clinical biochemists, to help develop our common speciality? We want to gather the future generation of specialists in an unusual, but already traditional course.

The seminars include a variety of subjects from organization and logistics, quality assesment to the financial crisis and its influence on our work.

Still the most important goal is to get to know each other and to strengthen our professional relationships.

The course and lodgings will take place on T/S Helene, a genuine sailing ship. With the help of a professional crew we`ll visit habours in the Baltic sea. No previous sailing experience is required.

The teachers are Per Simonsson, Ingunn Thorsteinsdottir, Palle Wang, Inga Zelvytè, Mattias Aldrimer and Bess Frøyshov.

We´ll meet on Thursday at noon in Ystad 3th of September and say goodbye Sunday at noon on the 6th of September.

The course is open for clinical biochemists and chemists in postgraduate specialist training in Scandinavia. The maximum number of participants is 14 and the minimum is 10.

The course will be fully financed by NFKK and KBN.

You can read more about the previous course in Klinisk Biokemi i Norden, nr 3, 2008.

For further information and registration, before 1st of July; send an e- mail to Bess Frøyshov at frob@sb-hf.no

EliA™
Excellence in Autoimmunity

ImmunoCAP™
Is it allergy?

EliA™ on ImmunoCAP™ 250

Automation and quality both in allergy and autoimmunity testing

State of the arts analytes EliA™ CCP and EliA™ Celikey

Phadia

Phadia AB
Marknadsbolag Sverige
Box 6460
SE-751 37 Uppsala

Phadia AS
Nydalsveien 33
Postboks 4814, Nydalen
NO-0422 Oslo

Phadia OY
Rajatorpantie 41 C
FIN-01640 Vantaa

Phadia Aps
Gydevang 33
DK-3450 Allerød

www.phadia.com

Klinisk biokemi – et forskningstungt speciale
Fremtid eller en forældet romantisk forestilling?

Ebba Nexø
Klinisk Biokemisk Afdeling, Århus Universitetshospital, Århus
e.nexo@dadlnet.dk
Lars Melholt Rasmussen
Afdeling for Biokemi, Farmakologi og Genetik, Odense Universitetshospital, Odense
Lars.Melholt.Rasmussen@ouh.regionsyddanmark.dk

Når der skal slås på tromme for klinisk biokemi, fremhæves det ofte, at faget er forskningstungt. Det var det engang, men der må gøres en aktiv indsats for at sikre, at det også gælder i fremtiden.

Der var engang…

Når de ældre læger i faget samles, ynder de at bekræfte hinanden i vores fags store betydning for dansk forskning, og måske bliver der også vekslet et par ord om "da jeg var ung".

Mange var veletablerede forskere, før de startede i faget. Andre blev kastet ud i projekter fra første dag på afdelingen. Tiden på den klinisk biokemiske afdeling var fyldt med forskningsaktiviteter kun sjældent afbrudt af udfordringer med dagligdagens produktion af analysesvar. Det var gennem aktiv forskning, man kvalificerede sig og opnåede de kompetencer, der var nødvendige for til sin tid at blive overlæge på en klinisk biokemisk afdeling.

Det var længe før strukturerede uddannelsesforløb, midtvejssamtaler og de syv kompetencer.

At klinisk biokemi formåede at leve op til den ældre generations forestillinger om et forskningstungt speciale er fornemt dokumenteret for Danmarks vedkommende i den undersøgelse overlæge Henrik L Jørgensen præsenterede på DSKBs jubilæums-møde i 2006, og som nu er publiceret i Ugeskrift for Læger (1).

Hvordan ser det ud i dag?

Vi ønsker at fastholde vores fag som et mekka for forskningsinteresserede kolleger og er næppe i tvivl om, hvor vigtigt det er for den samlede danske forskning. Dette ikke mindst i en tid hvor det er fastslået, at forskning er en forpligtigelse for alle landets hospitaler på lige fod med patientbehandling og uddannelse. De samme forhold gælder givetvis i de øvrige nordiske lande.

Men det opnås ikke ved i pjecer og uddannelsesprogrammer at reklamere for fagets forskningsengagement. Dagligdagen for den nystartede læge og kemiker er præget af praktiske opgaver, rutineforpligtigelser og uddannelseskrav. Mange læger starter i et klinisk biokemisk speciallægeforløb uden at have forskningserfaring. De kan let få dagen til at gå med at forstå den klinisk biokemiske verden. En verden, der på mange måder er meget forskellig fra den kliniske virkelighed, der er indlært under studiet og gennem den tidlige kliniske uddannelse.

I et sådant scenario kommer den yngre læges forskningsengagement ikke af sig selv. Der skal gøres en indsats på "alle hylder".

Nogle råd til fastholdelse af yngre lægers forskningsengagement

Alle afdelinger, der tilbyder uddannelsesstillinger i klinisk biokemi, har et stort ansvar. Det er dem, der kan sikre vores fags fremtid som et forskningstungt speciale. Men der skal gøres en indsats. Vi giver nogle bud og samtidigt en opfordring til de enkelte afdelinger og deres yngre læger. Diskuter problemfeltet og kom gerne op med flere gode forslag. Her er vores:

1. Vælg de rigtige kandidater. Dokumenteret forskning/forskningsinteresse skal prioriteres højt, når vi vælger kandidater til introduktionsstillinger.

Lad være med at besætte stillingen, hvis der ikke er forskningsegnede kandidater i spil.
2. Udnyt kombinerede ph.d.-speciallægeuddannelsesforløb, forløb som omtales i artiklen om LabMed andetsteds i bladet.
3. Få straks den nyansatte introduktionslæge i gang med forskning og indlær så mange af introduktionsstillingens kompetencer som muligt gennem forskning. Gem indlæring af de øvrige driftskompetencer til sidst i uddannelsesforløbet.
4. Undlad at bruge de yngre læger til "ikkelægelige" opgaver. Det siges, at den bedste måde at sikre dette på er, at man i en måned om året lader overlægerne passe alle de opgaver, der er lagt på de yngre læger.
5. Præsenter mulighederne for forskning, men lad den yngre læge komme mest muligt til orde ved formulering af det konkrete projekt. Tag vidtgående individuelle hensyn. Men hvis den yngre læge ikke har en "forskningsprofil", bør forskningen være inden for et område, hvor afdelingen allerede har kompetencer. Så er der størst chance for succes.
6. Sørg for tilstrækkelige forskningsressourcer i starten. At søge forskningsmidler er en nødvendig kompetence, men skal det gøres, før man har prøvet kræfter med forskning, er det svært.
7. Lad forskningsaktivitet/-interesse være en afgørende parameter, når introduktionsforløb skal godkendes, og hoveduddannelsesforløb skal besættes.
8. Sørg for synlige karriereveje. Også på senere tidspunkter i karrieren skal der være plads til forskning. Det er derfor vigtigt, at alle afdelingens akademikere har forskningsforståelse, og at mange af dem er aktivt engageret i egen forskning.

Hvorfor skal klinisk biokemi fortsætte som et forskningstungt speciale?

Forskning er på dagsordenen i Danmark, bl.a. fordi det med den nye sygehuslov er en forpligtigelse for sygehusene. Vi finder det helt naturligt, at det på de enkelte hospitaler er de klinisk biokemiske afdelinger, der påtager sig en rolle både som en støttefunktion for de øvrige afdelingers forskning og med selvstændigt igangsat forskning. Og det kan vi, hvis vi fastholder vores position som et forskningstungt speciale og samtidigt sikrer en god koordinering mellem universitetshospitalernes klinisk biokemiske forskningsmiljøer og afdelingerne på de regionale sygehuse.

Med etableringen af den nye ph.d.-uddannelse i LabMed er en vigtig brik på plads. Nu gælder det om at udnytte mulighederne.

Reference

Henrik L. Jørgensen, Birger Larsen, Peter Ingwersen, Jens F. Rehfeld. Forskningsaktiviteten for speciallæger i klinisk biokemi. Ugeskr Læger 2008;170:2798-2802.

Foto: Henrik Alfthan

LabMed – et ph.d.-forskeruddannelsesprogram, skræddersyet til klinisk biokemi

Ebba Nexø
Klinisk Biokemisk Afdeling, Århus Universitetshospital, Århus
e.nexo@dadlnet.dk

LabMed er et nationalt ph.d.-forskeruddannelsesprogram, der gør det muligt at kombinere en ph.d.-uddannelse med en uddannelse til speciallæge eller specialist i klinisk biokemi.

Foto: Henrik Alfthan

Kuglerne støbes

Efter den succesrige danske kongres i klinisk biokemi i Århus i 2007 mødtes uddannelsesudvalget for speciallægeuddannelsen under Lars Ødums formandskab. Nok engang blev det fastslået, at klinisk biokemi er et forskningstungt speciale (1). Men bekymringer var der nok af.

Hvordan fastholder vi forskningstyngden i den kommende generation? Mange af de nye i faget er ikke engang startet på et forskningsprojekt, når de vælger klinisk biokemi. Noget må gøres.

Hvad med at skabe mulighed for fælles uddannelsesforløb, så man i et samlet forløb kan opnå ph.d.-graden og blive speciallæge/specialist i klinisk biokemi?

Barrierer overvindes

Det lød ganske enkelt: et samlet forløb for ph.d.- og speciallæge-/specialistuddannelse, måske oven i købet et forløb, der kunne gøres mere effektivt end at gennemføre de to uddannelser hver for sig.

Både uddannelsesudvalget for speciallæger og uddannelsesudvalget for andre akademikere under Dansk Selskab for Klinisk Biokemi (DSKB) nikkede entusiastisk til planerne, så set fra specialets side var det enkelt, og i løbet af et par måneder havde DSKB-medlemmer indsendt forslag om i alt 16 kombinerede uddannelsesforløb, forslag – som kom til at indgår i en ansøgning til Det Frie Forskningsråd med henblik på at få disse forløb delvis finansieret.

Men at få etableret det nationale forskeruddannelsesprogram var en udfordring. Alle tre sundhedsvidenskabelige fakulteter i Danmark skulle være med om bordet, og der skulle være accept i alle tilfælde fra hospitalsvæsenet i den region, der er vært for programmet. Minsandten om det ikke lykkedes. Da

ansøgningen om støtte til programmets ph.d.-forløb skulle indsendes til Det Frie Forskningsråd, var alle underskrifter på plads, og LabMed et forskeruddannelsesprogram i laboratoriemedicin var en realitet.

LabMed

LabMed er et nationalt forskeruddannelsesprogram forankret ved Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet, som program 7 (FP 7). Programmet vil udbyde egne kurser, men tyngden i kursusudbudet vil være kurser, der kan godkendes af DSKBs uddannelsesudvalg. På den måde kan læger på samme tid tage kurser til speciallægeuddannelsen og ph.d.-kurser, og tilsvarende kan andre akademikere tage kurser, der kan godkendes både til den biokemiske specialuddannelse og til ph.d.-uddannelsen.

De, der ønsker at blive optaget på forskeruddannelsesprogrammet, skal tilmelde sig ph.d.-studiet efter gældende regler på et af de tre sundhedsvidenskabelige fakulteter i Danmark og bede om at blive optaget under uddannelsesprogrammet LabMed, FP 7. Ønskes ph.d.-forløbet gennemført som eksempelvis et 6-årigt kombineret ph.d.-speciallæge uddannelsesforløb, skal dette være aftalt med det regionale uddannelsesudvalg, via den postgraduate lektor.

LabMed skal som andre forskeruddannelsesprogrammer udbyde kurser og facilitere andre relevante aktiviteter for de studerende. For at få det hele til at hænge sammen er der nedsat en bestyrelse (se boks), som alene har til opgave at sørge for, at LabMed bliver et program af høj kvalitet.

Og hvad sker der nu?

LabMed kan allerede nu modtage studerende.
Og LabMed har fået en kick-start med bevilling af 6 uddannelsesforløb, som alle vil starte i løbet af foråret 2009. De seks stipendier er finansieret med en tredjedel fra Det Frie Forskningsråd og en tredjedel fra det universitet, hvor den ph.d.-studerende indskrives. Den sidste tredjedel skal hentes fra hospitalsansættelse, fra industrien eller fra private fonde.

LabMeds uddannelsesprogram er under udarbejdelse, og vi vil i den forbindelse meget gerne være med, hvis der bliver mulighed for nordiske kurser, kurser, der kan være til glæde både for LabMeds studerende og for uddannelsessøgende/ph.d.-studerende i de øvrige nordiske lande.

Du kan læse mere om LabMed på DSKBs hjemmeside (www.dskb.dk) under uddannelse.

Referencer

1. Henrik L. Jørgensen, Birger Larsen, Peter Ingwersen, Jens F. Rehfeld. Forskningsaktiviteten for speciallæger i klinisk biokemi. Ugeskr Læger 2008;170:2798-2802.

Forskeruddannelsesprogrammet LabMed er forankret ved Forskerskolen, Det Sundhedsvidenskabelige Fakultet, Aarhus Universitet.

Bestyrelsen består af:
Professor, overlæge, dr.med. ***Ebba Nexø***, Århus (***formand***)
Postgraduat lektor, ledende overlæge, ph.d. ***Anne-Mette Hvas***, Århus
Adj. professor, ledende biokemiker, dr.scient. ***Anders H. Johnsen***, København
Professor, overlæge, dr.med. ***Lars Bo Nielsen***, København
Klinisk lektor, overlæge, ph.d. ***Holger Jon Møller***, Århus
Professor, overlæge, dr.med. ***Lars Melholt Rasmussen***, Odense
Professor, overlæge, dr.med. et dr.scient. ***Jens F. Rehfeld***, København
Professor, laboratorieleder, ph.d. ***Elvar Theodorsson***, Linköping, Sverige
1-2 ph.d.-studerende
Læs mere på DSKBs hjemmeside: www.dskb.dk

Den vandrande vetenskapsmannen
Atlanten på lera och krita

Per Simonsson

En rå och grå vårdag i Köpenhamn, på rymmen från den där kongressen som han egentligen inte borde ha anmält sig till, beger sig den vandrande vetenskapsmannen söderut. Han vandrar en väl ingången stig. På Knippelsbro sliter en västanvind tag i vinterrocken som han håller hårt om sin ullklädda kropp. I Christianshavns gränder mojnar kulingen till hård bris. Med vinden i ryggen länsar han österut. Mot Nordatlanten i Köpenhamn: Nordatlantens Brygge.

Hit, till Den Grönlandske Plads, forslade danska köpmän sina varor och sitt stöldgods från besittningarna på andra sidan Nordsjön. Hit kom kolonialmaktens skatter, inte i form av doftlöst guld, blåskimrande porslin eller prasslande siden, utan som stinkande balar av sälskinn, tunnor med saltad sill och staplar av torkad fisk. Samt - för att skapa en närmast narkotisk eruption av odörer - valfångarnas laster med tran.

Hit kom undersåtarna från de avlägsna öarna i Atlanten; inuiter, islänningar, färingar. Här steg de för första gången på dansk lera och krita. Kom de en dag som denna, med atlantkuling i luften, måste de för ett ögonblick ha lyckats kuva hemlängtan.

Vissa kom frivilligt, för att söka lycka eller bildning. Andra, som inuiternas barn, forslades hit för att befrias från infödingslivet och i fosterhem eller på anstalt skolas till Sanna Danskar. Det pågick till sextiotalet. En systematisk deportation, vars ättlingar kan ses ragla omkring med tillbudöl i handen, ett stenkast bort på Christianshavns Torv.

Det Almindelige Handelskompagni lät 1767 resa detta storstilade packhus för att hantera rikedomarna. Kolonialismens logistik, under kungligt beskydd. Här gjordes förmögenheter av de främmande varorna. Här köpslog handelshusens köpmän och grosshandlare med råbarkade kaptener och mindre nogräknade rövare.

I gränderna ner mot Wilders Plads spirade småföretagandet: Handelsbodar och horhus, verkstäder och varv. Och krogar där de nyanlända för första gången fick prova det i kolonierna förbjudna ölet.

Först på 1980-talet upphörde de sista resterna av kommersen. Det stora packhuset väntade på en ny roll. Och det har det fått. Den nya tidens hyllning, lagom postkolonial, i stam skandinavisk design. Trandoften är borta. Väggarna renknackade och trästockarna barskrapade. Här ligger nu de atlantiska öarnas officiella representationer. Här håller isländska och färöiska delegationerna hus. Sendiráð Íslands, vilket vackert namn på en ambassad! Och vill man planera semester finns det en resebyrå med alla former av kylslagna vildmarksresor.

Den Nordatlantiska Brygge är värd regelbundna besök. Konserter arrangeras om en artist är i Köpenhamn. Föredrag hålls om någon, oftast misslyckad, dansk polarexpedition. Ett galleri visar utställningar av konst från de nordatlantiska öarna. Hårkonst från Torshavn, oljemåleri från Island eller foto från Grönland. Skapandet finns överallt. Det finns kämpande konstnärer på Färöarna, så långt från alla konstmetropoler. Människor som skapar oförtrutet, på de mest ödsliga och vindpinade utposter.

Men den största upplevelsen som den vandrande vetenskapsmannen i vart fall en gång i livet skall unna sig är Noma. Restauranten lär nu vara rankad som nummer tio i världen. Hur man nu kan gradera njutningar. Men säkert är det sant. Och efter en afton i en av de fårfällsklädda stolarna, med det yppersta av nordiska råvaror, stillsamt och diskret komponerade till en menu utöver det vanliga sensationsmatlageriet, inser man att detta är något unikt.

Nordatlanten på lera och krita, i samma hus som då på 1700-talet, men nu utan stank av tran och sill. En annan rikedom, i en annan tid.

I trapphuset hotar en isbjön i anfallsläge, Ishavets Lisbeth Salander. Uppstoppad.

IDS Nordic

Bone, Growth and Cartilage Diagnostics

immunodiagnosticsystems

Meet us at the Sol & Vårmöte i Klinisk Kemi, Kalmar 13-15 May 2009

IDS-iSYS assay menu

Calciotropic Hormones
25-Hydroxy Vitamin D
1,25-Dihydroxy Vitamin D*
Intact PTH*
Bioactive PTH (1-84)*

Bone Turnover
Serum CrossLaps® (CTX-I)*
BoneTRAP® (TRACP 5b)*
N-MID® Osteocalcin*
Ostase® BAP*

Growth Disorders
hGH*
IGF-I*
IGF-BP3*

Hypertension
Renin*
Aldosterone*

* in development

Automated Vitamin D now available!

Immunoassays

Bone Markers
25-Hydroxy Vitamin D
1,25-Dihydroxy Vitamin D
Intact PTH (1-84)
OSTASE® BAP
N-MID® Osteocalcin
BoneTRAP® (TRACP 5b human)
CrossLaps® (CTX-I)

Cartilage Markers
Urine CartiLaps® (CTX-II)
Total Aggrecan

Please ask for our full product catalogue including all pre-clinical markers.

Immunodiagnostic Systems Nordic a/s (IDS Nordic)
Marielundvej 30, 2. Sal, 2730 Herlev, Denmark
Tel: +45 44 84 0091 Email: info.nordic@idsplc.com www.idsplc.com

IDS-iSYS – Our fully Automated Speciality Analyzer

IFCC NEWS

Päivi Laitinen
Paivi.H.Laitinen@ppshp.fi

The second term of Secretary of the IFCC is well on the way. I expect this term to be a bit easier than the first term, because now I know the duties of the secretary. It always takes a couple of years to learn one's duties on a new job.

What are the duties of the Secretary of the IFCC? The main task is to prepare the agenda for each Executive Board meeting, together with the IFCC President. I usually start preparing the agenda of a meeting about six weeks before the actual meeting. I will collect all the emails, documents and reports, which I have received after the previous meeting and include them in the agenda. I also send requests to Division Chairs, Chairs of Task Forces and the Presidents of Regional Federations for any reports or items to be included in the agenda. The agenda is usually about 30 pages long and because of the many reports, publications, minutes and other documents the appendices are often 200-300 pages. I send the agenda to the Executive Board about two weeks prior the meeting to allow the EB Members to read all the material and prepare themselves for the meeting.

Executive Board has three meetings a year. During the meeting the Secretary takes the notes for the minutes of the meeting. This is the most difficult task, because I am not very quick in typing. The notes are usually a few words of a sentence, a few letters of a word, but it is amazing how well I can remember who said what based on these few notes. I usually write the draft minutes within a couple of weeks after the meeting, because the sooner you write the minutes the better you remember the course of the meeting. First I send the draft minutes to President for comments and corrections. After revising the first draft based on these I send the second draft of the minutes to the whole Executive Board for comments and corrections. They need another couple of weeks for comments and after receiving them I will finalize the minutes. I also write an Executive Summary of the minutes, which is published on the IFCC website after the finalization of the full minutes.

Every day I receive 30-40 IFCC emails, which need to be responded to, archived in my files for future need. It usually takes about two hours a day to deal with these emails, which I do in the evenings after my working hours in the laboratory.

The beginning of the year is usually the busiest time for the Secretary, because the IFCC Annual Report has to be compiled. To compile the annual report the IFCC office sends the Secretary's letter to the President, the Treasurer, the Corporate Representative in EB, the Chair of the Awards Committee, the National Societies, the Division Chairs and the Presidents of the Regional Federations asking them all to write their annual reports. The Secretary also writes the Executive Board's annual report. After I have all the reports I edit them for a homogenous format, correct spelling errors and sometimes also edit the text. Of these reports I also collect the highlights of the past year. In the end I have two sets of annual reports, one which is printed in LMI and the other one will be put on the IFCC website. The latter report contains the reports from all the National Societies and they will be also available on the IFCC website. This year we were lucky to receive annual reports from altogether 46 National Societies, which means that more than half of the membership sent their reports. This is the record and hopefully reflects the more interactive partnership between the International Federation and the National Societies.

The IFCC Secretary is also in charge of the IFCC office which is located in Milano. There three persons working full time for the IFCC. Each of the three ladies has their own tasks: one is working with Scientific Division and finances, one with EB and EFCC and the third one with EMD and CPD. Each of them has also task forces and other projects, symposia and

conferences to organize. The Secretary supervises the office and gives guidance when needed.

The Secretary is in charge of organizing the triennal IFCC Council meeting. We just had one in Fortaleza in connection with the WorldLab 2008. The Secretary sends invitations to National Societies, Corporate Members and Affiliate Members as well as IFCC officials. The Secretary also organizes the voting process for the election of the new Executive Board members, which is always a challenge. I prepared the voting process for Fortaleza very carefully, considering all the possibilities which could happen during the voting process, and I wanted to have a very transparent process. All the steps of the voting took place in front of the whole Council and all the votes for each candidate were announced after every round of the voting. I was very satisfied with this procedure and I believe everybody present was as well pleased. During the Council meeting the Secretary takes the notes and writes again the Minutes of the Council meeting.

One more conference is organized by the Secretary, the General conference. This conference is organized in co-operation by the President, the Secretary and the IFCC office. The program and the schedule of the General Conference are planned by the President and the Secretary and the IFCC office takes care of other arrangements, like hotel, transportation, and social program.

These are the main duties of the IFCC Secretary, but every week there are other issues which the Secretary needs to take care. As you see there are many different kinds of tasks, which make this job very interesting. Even though there is a lot to do every day, I dedicate at least one day of the week during the weekend totally for family issues. And during my vacations I read my emails only occasionally.

The new Executive Board had its first meeting in the beginning of March in Windsor, UK. The meeting place was very near Heathrow airport, so I did not actually need to go to London at all. Instead we visited Windsor Castle on a Saturday afternoon, before the meeting. The Castle was a magnificent place, huge and beautiful; actually it seemed to be like a small village. We were lucky to get into the section which was damaged by a fire over 10 years ago. The rooms were so fantastically renovated. I recommend you to visit the Windsor Castle if you have plans to visit London.

Winsor Castle. Foto Päivi Laitinen.

Anmeldelse

Common formulas and terms in statistics and metrology in the clinical laboratory

Jonna Skov Madsen, Klinisk Biokemi, Sygehus Lillebælt.
E-post: jonna.skov.madsen@slb.regionsyddanmark.dk

Anders Kallner har med dette kompendium taget kampen op med den svære disciplin det er at beskrive baggrunden for en række hyppigt anvendte statistiske tests.

Kompendiet er med sine 32 sider en kortfattet og informationsmættet sag. Efter en motiveret indledning følger 4 afsnit:

- Formler
- Anbefalet litteratur og referencer
- Udvalgt metrologisk terminologi
- Indeks med formler og definitioner

Formelafsnittet udgør med sine 19 sider kompendiets kerne såvel hvad angår omfang og indhold. I dette afsnit er samlet en række udvalgte formler, der hyppigt finder anvendelse indenfor den laboratoriemedicinske verden og i forbindelse med planlægning og vurdering af biomedicinsk forskning.

Den sparsomme tekst i formelafsnittet består hovedsageligt af definitioner af udvalgte begreber og indplacerer formlerne i en vis kontekst. Herudover er formelsamlingen ikke gjort lettere tilgængelig ved anvendelse af grafiske illustrationer eller hyppige eksempler. Dette er et klart valg fra forfatterens side, der med formelsamlingen ikke har haft intentioner om at skrive en ny lærebog, men derimod en kondenseret formeloversigt, der kan tjene som et opslagsværk eller en repetitionsmulighed for fagfolk med forudgående indsigt i området. I overensstemmelse hermed er teksten da også flere steder indforstået i sin anvendelse af referencer – der dog er samlet i et separat afsnit.

Afsnittet med metrologisk terminologi er en nyttig og overskuelig oversigt over hyppigt anvendte begreber, der her defineres og forklares med noter og enkelte eksempler. Forfatteren gør i dette afsnit indledningsvis opmærksom på at dette afsnit refererer til et omfattende dokument udarbejdet af Joint Committee for Guides in Metrology. Dette dokument findes frit tilgængeligt på:
http://www.bipm.org/utils/common/documents/jcgm/JCGM_200_2008.pdf

Det afsluttende indeks over formler og definitioner tjener sit formål med hensyn til brugervenlighed og kunne med fordel have været suppleret med en oversigt over anvendte forkortelser.

Det er en lille torn i øjet at der i teksten er en del småfejl i form af stavefejl, glemte ord eller gentagelser – det er dog ikke noget det forstyrrer meningen, men helhedsindtrykket ville have været bedre hvis det havde været undgået. Forfatteren har selv lavet et rettelsesblad hvori enkelte fejl i formler er rettet.

Sammenfattende vil bogen kunne tjene som et kortfattet opslagsværk for læsere med forudgående indsigt i området, og som holder af at rent fysisk at kunne sidde med et samlet kompendium i hånden i stedet for løbende at skulle finde relevante informationer frem via bøger, diverse statistikprogrammers hjælpefunktioner eller ved opslag på Wikipedia.

Endelig må forfatteren anerkendes for sin opfordring til dialog med sine læsere ved at indbyde til kommentarer, korrektioner og forslag til:

anders.kallner@ki.se
Anders Kallner
Clinical Chemistry Lookout Foundation, Stockholm. Sweden 2008
Kan rekvireres på: qmtoolbox@gmail.com
ISBN 978-91-633-3272-2
Pris SEK 100

Redaktionskomiteen for Klinisk Biokemi i Norden:

Hovedredaktør: Per Simonsson · Tryk: Clausen Offset

Danmark
Overlæge Linda Hilsted
Klinisk biokemisk afd. KB
Rigshospitalet
Blegdamsvej 9
DK-2100 København Ø
Telefon: +45 35 45 20 16
Telefax: +45 35 45 28 80
E-mail: linda.hilsted@rh.regionh.dk

Finland
Sjukhuskemist Henrik Alfthan
Helsingfors Universitetscentralsjukhus
HUSLAB
Kvinnokliniken
Haartmansgatan 2
FIN-00290 Helsingfors
Telefon: +358 50 4271 457
Telefax: +358 9 471 74806
E-mail: henrik.alfthan@hus.fi

Norge
Overlege/Professor Tor-Arne Hagve
Medisinsk biokjemi
Laboratoriemedisinsk senter
Akershus universitetssykehus
1478 Lørenskog
Telefon: +47 67894326
Telefax: +47 67928590
E-mail: tor.arne.hagve@ahus.no

Sverige
Professor Anders Larsson
Avdelningen för klinisk kemi
Akademiska sjukhuset
S-751 85 Uppsala
Telefon: +46 18 6114271
Telefax: +46 18 552562
E-mail: anders.larsson@akademiska.se

Island
Överläkare Ingunn Torsteinsdóttir
Department of Clinical Biochemistry
Landspitali - University
Hospital Hringbraut
IS-101 Reykjavik
Telefon: +354 543 5033
Telefax: +354 543 5539
E-mail: ingunnth@landspitali.is

Sverige
Docent Per Simonsson
Klinisk kemi
Universitetssjukhuset MAS
5205 02 Malmö
Telefon: +46 4033 1459
E-mail: per.simonsson@med.lu.se

NFKK
Medicinsk direktør
Jarkko Ihalainen
Oy Medix Laboratorier Ab
Knäktbrogränden 1
FIN-02630 Esbo
Telefon: +358 9 5256259
Telefax: +358 9 5256255
E-mail: jarkko.ihalainen@medix.fi

Til manuskriptforfattere

Bidrag til Klinisk Biokemi i Norden sendes i elektronisk versjon til den nasjonale redaktøren som er angitt ovenfor. Formen på manuskriptet skal være som beskrevet i Vancouver-aftalen (http://www.etikkom.no/NEM/REK/vancouv.htm). Meddelelser og korte innlegg skrives fortløpende, mens lengre artikler med fordel bør inndeles i avsnitt med en kort overskrift. Tabeller skrives på eget ark sammen med en tekst som gjør tabellen selvforklarende.

Figurer skal være av teknisk god kvalitet med tekst og symboler store nok til at figuren tåler forminskning. Til hver figur skal det finnes en forklarende tekst. Tabeller og figurer sendes i elektronisk form.

Litteraturhenvisninger nummereres i den rekkefølge de angis i manuskript-teksten og skrives som i følgende eksempel (Vancouver-stil):

Sandberg S, Christensen NB, Thue G, Lund PK. Performance of dry-chemistry instruments in primary health-care. Scand J Clin Lab Invest 1989; 49: 483-8

Det faglige innhold i de innsendte manuskripter vil ikke bli vurdert med referee-system. Redaksjonskomiteen vurderer imidlertid alle manuskripter innholdsmessig og redaksjonelt og foreslår eventuelle endringer.

Redaktion för Klinisk Biokemi i Norden 2009

Linda Hilsted, Henrik Alfthan, Palle Wang, Ingunn Þorsteinsdóttir, Tor-Arne Hagve, Per Simonsson, Anders Larsson

Se også KBN's hjemmeside: www.kkno.org

Nordisk Forening for Klinisk Kemi (NFKK)

NFKK har som oppgave å arbeide for utviklingen av det nordisk samarbeide innen klinisk kjemi med spesiell fokus på forskning, faglig utvikling og utdanning. Den består av medlemmene i de vitenskapelige foreningene for klinisk kjemi i Danmark, Finland, Island, Norge og Sverige. Aktiviteten i NFKK foregår i like arbeidsgrupper og komiteer. Foreningen har det vitenskabelige ansvar for Scandinavian Journal of Laboratory and Clinical Investigation (SJCLI), har ansvar for utgivelse av Klinisk Biokemi i Norden, og står bak arrangering av de nordiske kongresser i klinisk kjemi.

Det nåværende styre består av Linda Hilsted (København), Niklas Rye Jørgensen (Roskilde), Tuula Metso (Helsinki), Harri Laitinen (Helsinki), Elin Olafdottir (Reykjavik), Ingunn Thorsteinsdottir (Reykjavik), Bjørn Bolann (Bergen), Johan Bjerner (Olso), Per Simonsson (Malmö), Ingvar Rydén (Kalmar).
Ordförande: Jarkko Ihalainen. Sekreterare: Pamela Edgren (Helsinki).

With the most comprehensive selection of immunoassay reagents available, Siemens Healthcare Diagnostics is clearly the one to pick.

Until now, no single company could provide a truly comprehensive menu of immunoassay reagents. By combining three leading diagnostics companies – Diagnostic Products Corporation, Dade Behring and Bayer HealthCare, Diagnostics Division, Siemens now offers testing choices covering more than 15 disease states. In fact, you've already made us a market leader in cardiac, fertility, oncology, thyroid and anemia testing. Our menu of unique assays is unmatched. With more than150 varieties – and still growing – no one offers a better solution. **www.siemens.com/more-choices.**

Answers for life.

SIEMENS

A91DX-0701130-A1-4A00

© 2008 Siemens Healthcare Diagnostics Inc. All rights reserved.